

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202491955** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.10.03

(22) Дата подачи заявки
2023.01.27

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)

(54) **АНТИТЕЛА ПРОТИВ MUSK ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ
НЕЙРОМЫШЕЧНЫХ НАРУШЕНИЙ**

(31) **22154118.8; 63/364,685**

(32) **2022.01.28; 2022.05.13**

(33) **EP; US**

(86) **PCT/US2023/061476**

(87) **WO 2023/147489 2023.08.03**

(88) **2023.09.21**

(71) Заявитель:

**АРДЖЕНКС БВ (BE);
ЮНИВЕРСИТЕ ДЕ МОНРЕАЛЬ
(CA); НЬЮ-ЙОРК ЮНИВЕРСИТИ
(US)**

(72) Изобретатель:

**Ванхауварт Руланд, Силанс Карен
(BE), Робитай Ришар, Арбур
Даниэлль, Рено Лоранс (CA), Бурден
Стивен Дж. (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к антителу против MuSK или его антигенсвязывающему фрагменту для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека. В варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент комбинируют с антихолинэргическим соединением.

A1

202491955

202491955

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-581591EA/061

АНТИТЕЛА ПРОТИВ MUSK ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОМЫШЕЧНЫХ НАРУШЕНИЙ

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США 63/364,685, поданной 13 мая 2022 года, и заявке EP 22154118.8, поданной 28 января 2022 года, полное описание которых настоящим включено посредством отсылки.

ССЫЛКА НА СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Данная заявка содержит список последовательностей, представленный в электронном виде в формате ST.26, настоящим полностью включенный посредством отсылки (указанная копия ST.26, созданная 27 января 2023 года, названа "196198_SL.XML" и имеет размер 364704 байта).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к антителу против MuSK или его антигенсвязывающему фрагменту для применения при лечении нейромышечного нарушения, такого как БАС (боковой амиотрофический склероз) у субъекта-человека. В варианте осуществления такое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент комбинируют с антихолинэргическим соединением.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

БАС - приобретенное неклочное автономное нейромышечное/нейродегенеративное нарушение, которое вызывает прогрессирующую потерю верхних и нижних мотонейронов (МН), что приводит к постепенной парализации и смерти через 2-5 лет. Денервация нейромышечного синапса (НМС) является характерным признаком БАС [1] и присутствует в нескольких моделях заболевания БАС [2-6], даже предшествуя гибели МН [1,3].

Одобренная в настоящее время терапия БАС (Рилузол) эффективна только у 20% больных БАС, продлевая их жизнь примерно на три месяца. Влияние Рилузона на функцию мышц крайне ограничено. Более того, БАС считается генетически гетерогенным заболеванием, скорее всего, представляющим несколько подгрупп с разной первичной патологией. В настоящее время не существует лечения, причем индивидуальная терапия, вероятно, также не сможет помочь всем больным БАС из-за различных первопричинных механизмов заболевания.

Таким образом, по-прежнему существует потребность в новой терапии БАС и других заболеваний, которые похожи на БАС ("БАС-подобные заболевания").

Пояснения к чертежам

Фигура 1. Комбинированное лечение улучшает двигательные функции у мышцей SODIG37R. Лечение ARGX-119 начинали в P400 (до начала заболевания или до отсутствия симптомов), и лечение дарифенацином начинали в ~P425 (начало заболевания) и продолжали до умерщвления (~P520). А) Схема, на которой показан прибор Rotarod,

используемый для оценки двигательных функций, координации и равновесия после ускорения вращающегося колеса. В) Задержка до падения (сек) на Rotarod для антитела ARGX-119 (большой серый круг), комбинированной терапии у мышей, получавших ARGX-119+дарифенацин (черный треугольник), мышей, получавших дарифенацин (маленький серый круг), по сравнению с мышами, получавшими двойное плацебо (серый квадрат), возрастом от ~400 до 520 дней. С) Измеритель силы захвата, используемый для наблюдения общей силы передних и задних конечностей мышей. D) Изменение показателей силы захвата в ходе лечения от ~P400 до P520 в группах. E) Изменение показателей массы тела в ходе лечения от ~P400 до P520 в группах. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Односторонний дисперсионный анализ и t-критерий множественных сравнений.

Фигура 2. *Лечение улучшает сократительные свойства мышцы EDL.* А) Изображение установки датчика мышечной силы и электродов, стимулирующих нервы и мышцы, используемых для индукции мышечных сокращений. Примеры необработанных данных показывают сокращение мышц, вызванное стимуляцией нерва или мышцы, которые используются для вычисления отношения сократительной способности. В-С) Пиковая сила сокращения мышцы EDL, генерируемая стимуляцией нервов (В) или стимуляцией мышц на разных частотах (5-300 Гц) (С) для антитела ARGX-119 (серый круг) и комбинированного лечения мышей, получавших ARGX-119+дарифенацин (черный треугольник), по сравнению с мышами, получавшими двойное плацебо (серый квадрат). D) Гистограмма, на которой показано среднее значение \pm SEM отношения сократительной способности, выраженное в процентах для мышцы EDL, представляющее долю пиковой силы, создаваемой стимуляцией нерва, по сравнению со стимуляцией мышцы (частоты стимуляции от 5 до 100 Гц). E) Гистограмма, на которой показано среднее значение \pm SEM массы мышцы EDL у мышей, получавших антитело ARGX-119, комбинированное лечение и получавших плацебо. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями и t-критерий множественных сравнений.

Фигура 3. *Комбинированное лечение улучшает сократительные свойства камбаловидной мышцы.* А-В) Пиковая сила сокращения камбаловидной мышцы (SOL), создаваемая стимуляцией нерва (А) или стимуляцией мышцы на разных частотах (5-300 Гц) (В) для мышей, получавших антитело ARGX-119 (серый круг) и комбинированное лечение ARGX-119+дарифенацин (черный треугольник), по сравнению с мышами, получавшими двойное плацебо (серый квадрат). С) Гистограмма, на которой показано среднее значение \pm SEM отношения сократительной способности, выраженное в процентах для мышцы SOL, представляющее долю пиковой силы, создаваемой стимуляцией нерва по сравнению со стимуляцией мышцы (частоты стимуляции от 5 до 100 Гц). D) Гистограмма, на которой показано среднее значение \pm SEM массы мышцы EDL у мышей, получавших антитело ARGX-119, комбинированное лечение и плацебо. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Однофакторный дисперсионный анализ с

повторными измерениями и t-критерий множественных сравнений.

Фигура 4. *Комбинированное лечение сохраняет свойства мышечной усталости.*

А) Диаграмма, иллюстрирующая протокол усталости EDL, который состоит из 18 серий по 10 стимуляций, вызываемых при частоте 120 Гц в течение 300 мс (1 серия в секунду). Только стимуляцию нервов использовали в 9 из 10 сеансов, при этом стимуляция мышцы накладывалась на стимуляцию нерва каждые 10 стимуляций. После протокола усталости следует 30-минутный период восстановления. В-С) Пиковая сократительная сила во время протокола усталости и периода восстановления, выраженная в процентах от первоначальной исходной силы, развиваемой до протокола усталости, для стимуляции нерва (В) и стимуляции нерва+мышцы (С) мышцы EDL. Следует отметить, что более высокую устойчивость к усталости у животных, получавших плацебо (серый квадрат), по сравнению с животными, получавшими двойную комбинацию ARGX-119+дарифенацина (черный треугольник) и получавшими антитело ARGX-119 (серый круг). Это иллюстрирует значимое изменение в нормальных показателях быстрых мышц, которые обычно быстро устают. D-E) Пиковая сократительная сила во время протокола усталости и периода восстановления, выраженная в процентах от первоначальной исходной силы, развиваемой до протокола усталости, для стимуляции нерва (В) и нерва+мышцы (С) мышцы SOL. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями и t-критерий множественных сравнений.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Общие определения

Следующие термины или определения представлены исключительно для облегчения понимания изобретения. Если здесь специально не указано иное, все термины, используемые в настоящем документе, имеют такое же значение, которое известно специалисту в области, к которой относится настоящее изобретение. Практикующие специалисты, в частности, обращаются к справочникам Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Guide*, 2-е изд., Cold Spring Harbour Press, Plainsview, New York (1989); и Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology (Supplement 47)*, John Wiley & Sons, New York (1999), по поводу определений и терминов в данной области. Не следует считать, что определения, представленные в настоящем документе, имеют меньший объем, чем известно специалисту в данной области.

Если не указано иное, все способы, этапы, методики и манипуляции, которые конкретно не описаны подробно, могут быть выполнены и были выполнены известным способом, как будет понятно специалисту в данной области. Например, снова приводится ссылка на стандартные справочники, на общий уровень техники, указанные выше, и на дополнительные источники, цитируемые в них.

При использовании в настоящем документе формы единственного числа "a", "an" и "the" включают в себя как единственное, так и множественное число, если из контекста прямо не следует иное.

Термины "включающий", "включает" и "состоящий из" при использовании в настоящем документе являются синонимами слов "содержащий", "содержит", и являются включительными или открытыми и не исключают дополнительные, не перечисленные члены, соединения, продукты, элементы или стадии способа. Выражение "по существу состоит из", используемое в отношении продукта или композиции ("продукта, по существу состоящего из" или "композиции, по существу состоящей из"), означает, что дополнительные молекулы могут присутствовать, но при этом такая молекула не меняет/изменяет характеристику/активность/ функциональность указанного продукта или композиции. Например, композиция может по существу состоять из антитела или фрагмента антитела, если композиция в таком качестве будет демонстрировать аналогичные характеристики/активность/функциональность, как одно из антител или как один из фрагментов антитела.

Перечисление числовых диапазонов по конечным точкам включает все числа и дробные значения, входящие в соответствующие диапазоны, а также указанные конечные точки.

Подразумевается, что термин "приблизительно" при использовании в настоящем документе в отношении измеряемой величины, такой как параметр, количество, временная продолжительность и т.п., охватывает вариации +/-10% или меньше, предпочтительно +/-5% или меньше, более предпочтительно +/-1% или меньше, и еще более предпочтительно +/-0,1% или меньше от указанного значения, в той степени, в какой такие изменения подходят для реализации в раскрытом изобретении. Следует понимать, что само значение, к которому относится определение "приблизительно", также конкретно и предпочтительно раскрыто.

Термины "нарушение" и "заболевание" используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

В настоящем документе аминокислотные остатки будут обозначены либо их полным названием, либо в соответствии со стандартным трехбуквенным или однобуквенным кодом аминокислоты.

В настоящем документе термины "полипептид" или "белок" используются взаимозаменяемо и относятся к полимерной форме аминокислот любой длины, которая может включать кодируемые и не кодируемые аминокислоты, химически или биохимически модифицированные или дериватизированные аминокислоты, а также полипептиды, имеющие модифицированный пептидный скелет. "Пептид" также представляет собой полимер из аминокислот, длина которого обычно составляет до 50 аминокислот. Полипептид или пептид представлен аминокислотной последовательностью.

В настоящем документе термины "молекула нуклеиновой кислоты", "полинуклеотид", "полинуклеиновая кислота", "нуклеиновая кислота" используются взаимозаменяемо и относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины, дезоксирибонуклеотидов или рибонуклеотидов, либо их аналогов. Молекула нуклеиновой

кислоты представлена последовательностью нуклеиновой кислоты, которая, прежде всего, характеризуется последовательностью ее оснований. Полинуклеотиды могут иметь любую трехмерную структуру и выполнять любую известную или неизвестную функцию. Неограничивающие примеры полинуклеотидов включают ген, фрагмент гена, экзоны, интроны, матричную РНК (мРНК), транспортную РНК, рибосомную РНК, рибозимы, кДНК, рекомбинантные полинуклеотиды, разветвленные полинуклеотиды, плазмиды, векторы, выделенную ДНК любой последовательности, контрольные области, выделенную РНК любой последовательности, зонды нуклеиновых кислот и праймеры. Молекула нуклеиновой кислоты может быть линейной или кольцевой.

В настоящем документе термин "гомология" означает, по меньшей мере, вторичную структурную идентичность или подобие между двумя макромолекулами, в частности, между двумя полипептидами или полинуклеотидами из одного и того же или разных таксонов, где указанное подобие обусловлено общим происхождением. Следовательно, термин "гомологи" обозначает родственные макромолекулы, имеющие указанное подобие вторичной и, возможно, третичной структуры. Для сравнения двух или больше нуклеотидных последовательностей "(процент) идентичности последовательностей" между первой нуклеотидной последовательностью и второй нуклеотидной последовательностью можно вычислить при использовании методов, известных специалисту в данной области, например, путем деления числа нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности, которые идентичны нуклеотидам в соответствующих положениях во второй нуклеотидной последовательности, на общее количество нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности и умножения на 100%, или при использовании известного компьютерного алгоритма для выравнивания последовательностей, такого как NCBI Blast. При определении степени подобия между двумя аминокислотными последовательностями специалист в данной области сможет учесть так называемые "консервативные" аминокислотные замены, которые обычно можно описать как аминокислотные замены, при которых аминокислотный остаток заменяется другим аминокислотным остатком с подобной химической структурой, и которые мало влияют или практически не влияют на функцию, активность или другие биологические свойства полипептида. Возможные консервативные аминокислотные замены уже были представлены в настоящем документе в качестве примеров. Говорят, что аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот "абсолютно одинаковые", если они обладают 100% идентичностью последовательности на протяжении всей своей длины.

В тексте данной заявки при каждом упоминании SEQ ID NO конкретной аминокислотной последовательности (возьмем в качестве примера SEQ ID NO: Y), ее можно заменить на: полипептид, включающий аминокислотную последовательность, которая обладает по меньшей мере 80% идентичностью или подобием последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: Y. В тексте данной заявки формулировка "последовательность по меньшей мере на X% идентична

другой последовательности" может быть заменена формулировкой "последовательность обладает по меньшей мере X% идентичностью последовательности с другой последовательностью".

Каждая аминокислотная последовательность, описанная в настоящем документе, в силу ее процента идентичности (по меньшей мере 80%) с данной аминокислотной последовательностью соответственно обладает в другом предпочтительном варианте осуществления по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичностью или большей идентичностью с данной аминокислотной последовательности соответственно. В предпочтительном варианте идентичность последовательностей определяют путем сравнения полной длины последовательностей, идентифицированных в настоящем документе. Каждая аминокислотная последовательность, описанная в настоящем документе, в силу ее процентного подобия (по меньшей мере 80%) с данной аминокислотной последовательностью соответственно имеет в другом предпочтительном варианте осуществления по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% подобие или большее подобие с данной аминокислотной последовательности соответственно. В предпочтительном варианте подобие последовательностей определяют путем сравнения полной длины последовательностей, как идентифицировано в настоящем документе. Если в настоящем документе не указано иное, идентичность или подобие с данной SEQ ID NO означает идентичность или подобие на основе полной длины указанной последовательности (т.е. по всей ее длине или в целом).

"Идентичность последовательностей" в настоящем документе определена как отношение между двумя или больше аминокислотными (полипептидными или белковыми) последовательностями или двумя или больше последовательностями нуклеиновых кислот (полинуклеотидами), определяемое путем сравнения последовательностей. Идентичность между двумя аминокислотными последовательностями предпочтительно определяют путем оценки их идентичности в границах всей SEQ ID NO, как указано в настоящем документе, или ее части. Ее часть может означать по меньшей мере 50% длины SEQ ID NO или по меньшей мере 60%, или по меньшей мере 70%, или по меньшей мере 80%, или по меньшей мере 90%.

В уровне техники "идентичность" также означает степень родства последовательности между аминокислотными последовательностями, в зависимости от обстоятельств, что определяется совпадением между цепями таких последовательностей. "Подобие" между двумя аминокислотными последовательностями определяют при сравнении аминокислотной последовательности и ее вариантов с консервативными аминокислотными заменами для одного полипептида с последовательностью второго полипептида. "Идентичность" и "подобие" можно легко вычислить с помощью известных методов, включающих, без ограничения, методы, описанные в Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing:

Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heine, G., Academic Press, 1987; и Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; а также Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48:1073 (1988).

Предпочтительные методы определения идентичности подбирают так, чтобы обеспечить наибольшее совпадение между исследуемыми последовательностями. Методы определения идентичности и подобия включены в программный код общедоступных компьютерных программ. Предпочтительные компьютерные программные методы для определения идентичности и подобия между двумя последовательностями включают, например, пакет программ GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research 12 (1): 387 (1984)), BestFit, FASTA, BLASTN, and BLASTP (Altschul, S. F. et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)), EMBOSS Needle (Madeira, F., et al., Nucleic Acids Research 47(W1): W636-W641 (2019)). Программа BLAST общедоступна на сайте NCBI и из других источников (BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBI NLM NIH Bethesda, MD 20894; Altschul, S., et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)). Программа EMBOSS общедоступна на сайте EMBL-EBI. Для определения идентичности также может использоваться известный алгоритм Смита-Уотермана. Программа EMBOSS Needle является предпочтительной используемой программой.

Предпочтительные параметры для сравнения полипептидных последовательностей включают следующее: Алгоритм: Нидлмана и Вунша, J. Mol. Biol. 48 (3):443-453 (1970); Матрица сравнения: BLOSUM62 из Henikoff and Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:10915-10919 (1992); Штраф за открытие пропуска: 10; и штраф за продолжение пропуска: 0,5. Программа, которая может использоваться с этими параметрами, общедоступна как программа EMBOSS Needle на сайте EMBL-EBI. Вышеуказанные параметры являются параметрами по умолчанию для глобального парного выравнивания последовательности белков (без штрафа за пропуски на концах).

Предпочтительные параметры для сравнения нуклеиновых кислот включают следующее: Алгоритм: Нидлмана и Вунша, J. Mol. Biol. 48:443-453 (1970); Матрица сравнения: DNAMfull; Штраф за открытие пропуска: 10; Штраф за продолжение пропуска: 0,5. Программа, которая может использоваться с этими параметрами, общедоступна как программа EMBOSS Needle на сайте EMBL-EBI. Вышеуказанные параметры являются параметрами по умолчанию для глобального парного выравнивания нуклеотидных последовательностей (без штрафов за пропуски на концах).

В настоящем документе термины "нарушение" и "заболевание" используются взаимозаменяемо.

В настоящем документе также представлены варианты осуществления, где любой вариант осуществления, описанный в настоящем документе, можно комбинировать с любым одним или больше другими вариантами осуществления, при условии, что

комбинация не является взаимоисключающей.

Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент

Все антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, определенные в настоящем документе, включены в таком качестве в настоящее изобретение. Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты также предназначены для лечения нейромышечного нарушения у человека.

Настоящее изобретение относится к молекулам на основе антител против MuSK, включающим антитела против MuSK, их эпитопсвязывающие домены, их антигенсвязывающие фрагменты и производные антител, которые предназначены для лечения нейромышечного заболевания или состояния. В одном варианте формулировка "молекула на основе антитела" может быть заменена словом "антитело" или выражением "антитело или его функциональный фрагмент", или выражением "антитело или антигенсвязывающий фрагмент".

Термин "антитело против MuSK" можно заменить термином "антитело к MuSK".

Любая молекула на основе антитела против MuSK, включающая антитела против MuSK, их эпитопсвязывающие домены, их антигенсвязывающие фрагменты и производные антител, которая способна связывать мышечно-специфическую тирозинпротеинкиназу (MuSK), охвачена настоящим изобретением. В одном из вариантов такое антитело против MuSK также способно активировать сигнализацию и/или фосфорилирование MuSK. В изобретении подробно описано, что такие молекулы на основе антител могут применяться для лечения состояний, при которых субъект нуждается в усиленной сигнализации MuSK или фосфорилировании MuSK, таких как нейромышечные заболевания или состояния. Таким образом, в первом аспекте предложено антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения при лечении нейромышечного нарушения у человека.

MuSK - рецепторная тирозинкиназа, которая экспрессируется в скелетных мышцах и играет важную, ведущую роль в формировании и поддержании нейромышечных синапсов (Burden et al., "The Role of MuSK in Synapse Formation and Neuromuscular Assessment", Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 5:a009167 (2013), которая полностью включена в настоящий документ посредством отсылки). MuSK представляет собой однопроходный трансмембранный белок массой 120 кДа, состоящий из внеклеточной области, содержащей три Ig-подобных домена и Frizzled (Fz)-подобный домен, и внутриклеточной области, содержащей околочелюстную область, киназный домен и короткий цитоплазматический хвост (Jennings et al., "Muscle-Specific trk-Related Receptor with a Kringle Domain Defines a Distinct Class of Receptor Tyrosine Kinases", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:2895-2899 (1993) и Valenzuela et al., "Receptor Tyrosine Kinase Specific for the Skeletal Muscle Lineage: Expression in Embryonic muscle, at the Neuromuscular Junction, and After Injury", Neuron 15: 573-584 (1995), которые полностью включены в настоящий документ посредством отсылки). Фосфорилирование MuSK стимулируется агрином, сигналом, подаваемым мотонейронами. После активации MuSK стимулирует

пути, которые: (1) вызывают кластеризацию и заякоривание АХР-рецепторов и дополнительные мышечные белки, важные для синаптической передачи, (2) усиливают транскрипцию генов, кодирующих синаптические белки, в мышечных "синаптических ядрах" и (3) способствуют генерации ретроградных сигналов, которые способствуют пресинаптической дифференцировке и прикреплению окончаний двигательных нервов к мышцам. В отсутствие MuSK нейромышечные синапсы не формируются (Burden et al., "The Role of MuSK in Synapse Formation and Neuromuscular заболеваний", Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 5:a009167 (2013), которая полностью включена в настоящий документ посредством отсылки). В дополнение к своей роли при формировании синапсов, MuSK также необходима для поддержания зрелых синапсов, поскольку ингибирование экспрессии MuSK в зрелых мышцах приводит к выраженным нарушениям пресинаптической и постсинаптической дифференцировки (Kong et al., "Inhibition of Synapse Assembly in Mammalian Muscle in vivo by RNA Interference", EMBO Rep 5:183-188 (2004) и Hesser et al., "Synapse Disassembly and Formation of New Synapses in Postnatal Muscle Upon Conditional Inactivation of MuSK", Mol. Cell. Neurosci. 31:470-480 (2006), которые полностью включены в настоящий документ посредством отсылки). В соответствии с этими данными у мышей, мутации, которые нарушают активность киназы MuSK или ингибируют нижестоящие этапы сигнализации после MuSK, вызывают миастению (ВМ), характеризующуюся структурно и функционально дефектными синапсами, что приводит к мышечной слабости и утомляемости (Beeson et al., "Dok-7 Mutations Underlie a Neuromuscular Junction Synaptopathy", Science 313:1975-1978 (2006); Muller et al., "Phenotypical Spectrum of DOK7 Mutations in Congenital Myasthenic Syndromes", Brain 130:1497-1506 (2007); и Selcen et al., "A Compensatory Subpopulation of Motor Neurons in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis", J. Comp. Neurol. 490:209-219 (2008), которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки).

Аминокислотная последовательность MuSK человека имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129, приведенную ниже.

MRELVNIPLVHILTLVAFSGTEKLPKAPVITTPLETVDALVEEVATFMCIVESYPQ
 PEISWTRNKILIKLFDTRYISIRENGQLLTILSVEDSDDGIYCCTANNGVGGAVESCGALQV
 KMKPKITRPPINVKIEGLKAVLPCTTMGNPKPSVSWIKGDSPLRENSRIAVLESGSLRIHN
 VQKEDAGQYRCVAKNSLGTAYSKVVKLEVEVFARILRAPESHNVTFGSFVTLHCTATGI
 PVPTITWIENGNAVSSGSIQESVKDRVIDSRLQLFITKPGLYTCIATNKHGEKFSTAKAAA
 TISIAEWSKPQKDNKGYCAQYRGEVCNAVLAKDALVFLNTSYADPEEAQELLVHTAWN
 ELKVVSPVCRPAEALLCNHIFQECSPGVVPTPIPICREYCLAVKELFCAKEWLVMEECT
 HRGLYRSEMHLLSVPECSKLPMSHWDPACARLPHLDYNKENLKTFFPMTSSKPSVDIP
 NLPSSSSSSFSVSPTYSMTVIISIMSSFAIFVLLTITTLTYCCRRRKQWKNKKRESAAVTLTT
 LPSELLLDRLHPNPMYQRMPLLLNPKLLSLEYPRNNIEYVRDIGEGAFGRVVFQARAPGLL
 PYEPFTMVAVKMLKEEASADMQADFQREAALMAEFDNPNIVKLLGVCAVKGPMCLLF
 EYMAYGDLNEFLRSMSPHTVCSLSHSDLSMRAQVSSPGPPPLSCAEQLCIARQVAAGMA
 YLSERKFVHRDLATRNCVLGENMVVKIADFGLSRNIYSADYYKANENDAIPIRWMPPE

IFYNRYTTESDVWAYGVVLWEIFSYGLQPYYGMAHEEVIYYVRDGNILSCPENCVELY
NLMRLCWSKLPADRPSFTSIHRILERMCERAEGTVSV (SEQ ID NO: 129)

В соответствии с настоящим изобретением, молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, связываются с эпитопом в Frizzled (Fz)-подобном домене белка MuSK. Fz-подобный домен MuSK имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 130, как показано ниже.

DNKGYCAQYRGEVCNAVLAKDALVFLNTSYADPEEAQELLVHTAWNELKVVS
PVCRAAEALLCNHIFQECSPGVVPTPIPICREYCLAVKELFCAKEWLVMEEEKTHRGLYR
SEMHLLSVPECSKLPMSHWDPACARL (SEQ ID NO: 130)

Термин "эпитоп" при использовании в настоящем документе относится к антигенной детерминанте, способную связываться с антителом. Эпитопы обычно включают поверхностные группы молекул, такие как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обычно имеют специфические трехмерные структурные характеристики, а также определенные зарядовые характеристики. Конформационные и неконформационные эпитопы различаются тем, что связывание с первыми, но не со вторыми, теряется в присутствии денатурирующих растворителей. Эпитоп может включать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа) и другие аминокислотные остатки, которые не участвуют непосредственно в связывании, например, аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются специфическим антигенсвязывающим пептидом (другими словами, аминокислотный остаток находится в пределах области распознавания специфического антигенсвязывающего пептида). Эпитоп обычно включает по меньшей мере 3, а чаще по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше, аминокислот в уникальной пространственной конформации.

В одном из вариантов осуществления антитело к MuSK или антигенсвязывающий фрагмент для применения согласно изобретению связывает Frizzled (Fz)-подобный домен MuSK. В одном из вариантов осуществления антитело к MuSK или антигенсвязывающий фрагмент иммуноспецифично связывают эпитоп в последовательности Fz-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 130 чаще, быстрее, с большей продолжительностью и/или с большей аффинностью или авидностью, чем альтернативный эпитоп. В одном из вариантов осуществления молекулы на основе антител MuSK, описанные в настоящем документе, иммуноспецифично связываются с любыми 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше аминокислотными остатками SEQ ID NO: 130. Термин "аффинность", "специфичное связывание", "связывание", "иммуноспецифичное связывание", "активность связывания" или "активность специфичного связывания", используемые в настоящем документе, относятся к степени, в которой антитело или фрагмент антитела, как определено в настоящем документе, связывается с эпитопом в последовательности Fz-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 130.

В одном из вариантов осуществления молекулы на основе антитела к MuSK,

раскрытые в настоящем документе, связываются с Fz-подобным доменом MuSK с аффинностью, соответствующей KD приблизительно 10^{-7} М или меньше. Например, молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, связываются с Fz-подобным доменом MuSK с аффинностью, соответствующей KD приблизительно 10^{-8} М, приблизительно 10^{-9} М, приблизительно 10^{-10} М, приблизительно 10^{-11} М, приблизительно 10^{-12} М или меньше при определении, например, с помощью технологии поверхностного плазмонного резонанса (ППР) на приборе Biacore 3000 (предпочтительно с использованием антитела в качестве лиганда и MuSK в качестве аналита). Молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, связываются с Fz-подобным доменом MuSK с аффинностью, соответствующей KD, которая по меньшей мере в десять раз ниже, например, по меньшей мере в 100 раз ниже, например, по меньшей мере в 1000 раз ниже, например, по меньшей мере в 10000 раз ниже, например, по меньшей мере в 100000 раз ниже, чем его аффинность при связывании с неспецифическим антигеном (например, бычьим сывороточным альбумином, казеином и т.д.). Величина, на которую аффинность ниже, зависит от KD антитела, поэтому, когда KD антитела очень низкая (т.е. антитело является высокоспецифичным), то тогда величина, на которую аффинность к антигену ниже, чем аффинность к неспецифическому антигену, может составлять по меньшей мере 10000 раз. Термин "kd" (сек^{-1} или $1/\text{с}$) при использовании в настоящем документе относится к константе скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитела-антигена. Это значение также называется значением koff. Термин "ka" ($\text{М}^{-1} \times \text{сек}^{-1}$ или $1/\text{М}$) при использовании в настоящем документе относится к константе скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитела-антигена. Термин "KD" (М) при использовании в настоящем документе относится к равновесной константе диссоциации конкретного взаимодействия антитела-антигена и является результатом деления kd на ka. Термин "KA" (М^{-1} или $1/\text{М}$) при использовании в настоящем документе относится к равновесной константе ассоциации конкретного взаимодействия антитела-антигена и является результатом деления ka на kd.

В одном из вариантов осуществления молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, обладают pH-зависимой аффинностью связывания с MuSK, что обеспечивает возможность рециркуляции антитела для усиления связывания антигена. Например, в одном из вариантов осуществления константа скорости ассоциации или константа скорости диссоциации может различаться в условиях кислого, нейтрального или основного pH. В одном варианте осуществления молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, имеют более высокую константу скорости диссоциации в условиях кислого pH, например $\text{pH} < 7,0$, по сравнению с условиями нейтрального pH, например $\text{pH} \sim 7,0-7,9$. В некоторых вариантах осуществления молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, имеют константу скорости диссоциации в 2-3 раза выше (т.е. сниженную аффинность связывания) при кислом pH (например, $\text{pH} \sim 5,5$) по сравнению с нейтральным pH ($\text{pH} \sim 7,4$). В одном из вариантов осуществления молекулы на основе антитела к MuSK

связывают Fz-подобный домен MuSK с более высокой аффинностью в условиях нейтрального pH, чем в условиях кислого pH. Другими словами, в варианте осуществления молекулы на основе антитела к MuSK связывают Fz-подобный домен MuSK с более высокой скоростью диссоциации в условиях кислого pH, чем в условиях нейтрального pH. Условия нейтрального pH можно определить как pH, составляющий 7,0-7,9. Условия кислого pH можно определить как pH меньше 7,0. Более высокая может означать по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300% выше. Антитела, обладающие такой характеристикой pH-зависимой диссоциации, диссоциируют от антигена после связывания и активации, но до лизосомальной деградации. После диссоциации антитело транспортируется посредством неонатального Fc-рецептора обратно в кровоток и высвобождается для дополнительного связывания антигена.

В некоторых вариантах осуществления связывание антител к MuSK согласно настоящему изобретению с их соответствующими эпитопами в Fz-подобном домене активирует сигнализацию MuSK. В частности, когда антитела к MuSK согласно настоящему изобретению связывают их соответствующий эпитоп Fz-подобного домена MuSK, такое связывание вызывает фосфорилирование и активацию MuSK. Антитела к MuSK согласно настоящему изобретению вызывают фосфорилирование MuSK на уровне приблизительно 50-100% по сравнению с фосфорилированием MuSK, вызванным активацией агрином (как измерено, например, в анализе фосфорилирования C2C12). В одном варианте осуществления антитела к MuSK согласно настоящему изобретению вызывают приблизительно 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% 95% фосфорилирования MuSK (по сравнению с фосфорилированием MuSK, вызванным активацией агрином). В варианте осуществления молекулы на основе антитела к MuSK согласно настоящему изобретению вызывают от приблизительно 90% до приблизительно 100% фосфорилирования MuSK (по сравнению с фосфорилированием MuSK, вызванным активацией агрином) при связывании с MuSK. Фосфорилирование MuSK можно оценивать с использованием методик, известных специалисту в данной области, таких как Вестерн-блоттинг или анализ фосфорилирования мышечных трубочек C2C12. Такие антитела, активирующие сигнализацию MuSK (т.е. индукцию димеризации MuSK, индукцию фосфорилирования тирозина MuSK), являются антителами-агонистами.

В некоторых вариантах осуществления антитела к MuSK согласно настоящему изобретению, т.е. антитела к MuSK, которые связываются с Fz-доменом MuSK, не препятствуют (т.е. не блокируют, не нарушают, не ингибируют и не уменьшают) связыванию естественных лигандов и стимуляции MuSK. В некоторых вариантах осуществления антитела к MuSK костимулируют активацию MuSK его природным лигандом, т.е. агрином, с получением аддитивного эффекта активации, например, фосфорилирования MuSK. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитела к MuSK согласно настоящему изобретению усиливают естественную активацию MuSK, т.е. фосфорилирование, индуцированное связыванием природного лиганда. Такие

антитела к MuSK являются антителами-агонистами. В некоторых вариантах осуществления антитела согласно настоящему изобретению в комбинации с природным лигандом активируют MuSK (т.е. фосфорилирование MuSK) до >100% от эндогенных уровней активации, таких как по меньшей мере 110%, 130%, 150%, 200% эндогенных уровней активации.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления активности молекул на основе антитела к MuSK согласно настоящему изобретению включают: (i) связывание с эпитопом мышечно-специфической тирозинпротеинкиназы человека (MuSK), причем указанный эпитоп присутствует в последовательности Frizzled (Fz)-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 130, где указанная молекула на основе антитела вызывает фосфорилирование MuSK при связывании с ее эпитопом, и/или (ii) связывание с Fz-подобным доменом MuSK не блокирует, не препятствует или не ингибирует вызванное природным или эндогенным лигандом MuSK фосфорилирование и может усиливать указанное фосфорилирование, вызванное природным или эндогенным лигандом MuSK, и (iii) связывание с Fz-подобным доменом MuSK проходит с более высокой аффинностью в условиях нейтрального pH, чем в условиях кислого pH. Все эти признаки дополнительно определены в настоящем документе.

Молекулы на основе антитела включают без ограничения антитела, полные антитела, эпитопсвязывающие фрагменты полных антител, антигенсвязывающие фрагменты полных антител и производные антител. Эпитопсвязывающий фрагмент антитела может быть получен путем фактической фрагментации исходного антитела (например, Fab или (Fab)₂-фрагмент). В альтернативе эпитопсвязывающий фрагмент представляет собой аминокислотную последовательность, которая включает часть аминокислотной последовательности такого исходного антитела. В настоящем документе молекула называется "производным" антитела (или его соответствующей части), если она получена в результате фактической химической модификации исходного антитела или его части, или если она включает аминокислотную последовательность, которая по существу подобна аминокислотной последовательности такого исходного антитела или его соответствующей части (например, отличается меньше чем на 30%, меньше чем на 20%, меньше чем на 10% или меньше чем на 5% от такой исходной молекулы или такой соответствующей части, или на 10 аминокислотных остатков, или меньше чем на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 аминокислотных остатка от такой исходной молекулы или ее соответствующей части).

В одном варианте молекула на основе антитела согласно настоящему изобретению представляет собой интактный иммуноглобулин или молекулу, имеющую эпитопсвязывающие 333 кислоты, кодирующие такие фрагменты в рекомбинантных клетках (см., например, публикацию Evans et al. "Rapid Expression Of An Anti-Human C5 Chimeric Fab Utilizing A Vector That Replicates In COS And 293 Cells", J. Immunol. Meth. 184:123-38 (1995), которая включена в настоящее описание посредством отсылки во всей своей полноте). Например, химерный ген, кодирующий часть F(ab')₂-фрагмента, может

включать последовательности ДНК, кодирующие домен СН1 и шарнирную область тяжелой цепи, после которых расположен стоп-кодон трансляции, с получением такой усеченной молекулы фрагмента антитела. Подходящие фрагменты, способные связываться с нужным эпитопом, можно легко проверить на предмет полезности в скрининге так же, как и интактное антитело.

Производные антител включают молекулы, которые содержат по меньшей мере один эпитопсвязывающий домен антитела, и которые обычно получают с использованием рекомбинантных технологий. Одно из примеров производного антитела включает одноцепочечный Fv (scFv). Фрагмент scFv образуется из двух доменов Fv-фрагмента, VL и VH, которые могут кодироваться отдельными генами. Такие последовательности генов или кодирующую их кДНК соединяют при использовании рекомбинантных методов посредством гибкого линкера (обычно состоящего из приблизительно 10, 12, 15 или больше аминокислотных остатков), что позволяет получать их в виде одной белковой цепи, в которой VL и VH связаны с образованием моновалентных эпитопсвязывающих молекул (см., например, Bird et al. "Single-Chain Antigen-Binding Proteins", *Science* 242:423-426 (1988); и Huston et al. "Protein Engineering Of Antibody Binding Sites: Recovery Of Specific Activity In An Anti-Digoxin Single-Chain Fv Analogue Produced In *Escherichia coli*", *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 85:5879-5883 (1988), которые полностью включены в настоящий документ посредством отсылки). В альтернативе, при использовании гибкого линкера, который не слишком короткий (например, не меньше чем приблизительно 9 остатков), чтобы обеспечить возможность связывания VL и VH разных одиночных полипептидных цепей, может быть получено биспецифичное антитело, обладающее специфичностью связывания к двум разным эпитопам.

В другом варианте осуществления производное антитела представляет собой двухвалентный или бивалентный одноцепочечный переменный фрагмент, сконструированный путем соединения двух scFv вместе либо в тандеме (т.е. тандемный scFv), либо таким образом, что они димеризуются с образованием диатела (Holliger et al. "Diabodies": Small Bivalent And Bispecific Antibody Fragments", *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 90(14), 6444-8 (1993), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте). В еще одном варианте осуществления антитело представляет собой триатело, т.е. трехвалентный одноцепочечный переменный фрагмент, сконструированный путем связывания трех scFv вместе либо в тандеме, либо в виде тримера с образованием триатела. В другом варианте осуществления антитело представляет собой тетратело из четырех одноцепочечных переменных фрагментов. В другом варианте осуществления антитело представляет собой "линейное антитело", которое представляет собой антитело, включающее пару тандемных Fd-сегментов (VH-СН1-VH-СН1), которые образуют пару антигенсвязывающих областей (см. Zapata et al. *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 (1995), которая включена в настоящее описание посредством отсылки во всей своей полноте). В другом варианте осуществления производное антитела представляет собой минитело, состоящее из одноцепочечных Fv-областей, связанных с

СНЗ областью (т.е. scFv-СНЗ).

Эти и другие полезные фрагменты и производные антител в контексте настоящего изобретения обсуждаются далее в настоящем документе. Также следует понимать, что термин "молекула на основе антитела", если не указано иное, также включает антителоподобные полипептиды, такие как химерные антитела и гуманизированные антитела, антигенсвязывающие фрагменты и фрагменты антител, сохраняющие способность специфично связываться с антигеном (эпитопсвязывающие фрагменты, антигенсвязывающие фрагменты или функциональные фрагменты), полученные любым известным методом, таким как ферментативное расщепление, пептидный синтез и рекомбинантные методы.

Антитело, созданное в настоящем документе, может относиться к любому изотипу. При использовании в настоящем документе термин "изотип" относится к классу иммуноглобулинов (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE или IgM), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Выбор изотипа обычно будет определяться требуемыми эффекторными функциями, такими как индукция антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC). Примерами изотипов являются IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Особенно полезные изотипы антител к MuSK, описанных в настоящем документе, включают IgG1 и IgG2.

Можно использоваться любая из константных областей легкой цепи человека, каппа или лямбда. При желании класс антитела к MuSK согласно настоящему изобретению можно изменить с помощью известных способов. Например, класс антитела согласно настоящему изобретению, которое изначально было IgM, можно переключить на антитело IgG согласно настоящему изобретению. Кроме того, можно использовать методы переключения классов для превращения одного подкласса IgG в другой, например, из IgG1 в IgG2. Таким образом, эффекторная функция антител согласно настоящему изобретению может быть изменена путем переключения изотипа, например, на антитело IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE или IgM для различных терапевтических применений.

В одном варианте осуществления одну, две или больше аминокислотных замен вводят в Fc-область константной области IgG для изменения эффекторной функции(й) молекулы на основе антитела. Например, одна или более аминокислот, выбранные из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 238, 239, 243, 265, 267, 268, 292, 297, 300, 318, 320, 322, 327, 328, 329, 330, 331, 332 и 396, пронумерованных в соответствии с системой нумерации EU (https://www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html#notes и Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969). PMID: 5257969), могут быть заменены другим аминокислотным остатком, в результате чего молекула на основе антитела будет иметь измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохранит антигенсвязывающую способность. В одном из вариантов осуществления была заменена аминокислота 234 или 235. В другом варианте осуществления были заменены аминокислоты 234 и 235. В этом контексте

предпочтительная аминокислотная последовательность константной Fc-области человеческого IgG включает SEQ ID NO: 266 или 267. В этом контексте, например, аминокислоты 234 и 235, пронумерованные в соответствии с системой нумерации EU, соответствуют аминокислотам 7 и 8 в SEQ ID NO: 266 и 267 (т.е. константной Fc-области человеческого IgG в молекуле на основе антитела, описанной в настоящем документе), или аминокислоты 234 и 235, пронумерованные в соответствии с системой нумерации EU, соответствуют аминокислотам 238 и 239 в SEQ ID NO: 268 и 270 (т.е. человеческой полноразмерной тяжелой цепи молекулы на основе антитела, раскрытой в настоящем документе). Положения обычно различаются, поскольку переменные области различаются по длине, что приводит к появлению "дельты" между нумерациями. В случае, представленном выше, такая дельта равна 4. Таким образом, то же справедливо и для других аминокислотных положений, определенных выше (т.е. 236, 237, 238, 239, 243, 265, 267, 268, 292, 297, 300, 318, 320, 322, 327, 328, 329, 330, 331, 332 и 396), пронумерованных в соответствии с системой нумерации EU при идентификации соответствующих позиций в SEQ ID NO: 266 или 267, или 268 или 270. В первоначальных материалах заявки один может относиться либо к положению аминокислоты с использованием системы нумерации EU, либо с использованием фактического положения в данной Fc-области (например, SEQ ID NO: 266 или 267), либо в полноразмерной тяжелой цепи (например, SEQ ID NO: 268 или 270).

Таким образом, в одном из вариантов осуществления 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или 17 аминокислотных замен введены в SEQ ID NO: 266 или 267. В одном варианте осуществления 1, 2, 3, 4 аминокислотные замены введены в SEQ ID NO: 266 или 267. В одном варианте осуществления 1 или 2 аминокислотные замены введены в SEQ ID NO: 266 или 267. Таким образом, в одном варианте осуществления 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или 17 аминокислотных замен введены в SEQ ID NO: 266 или 267, причем указанные замены введены в аминокислотные положения, выбранные из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 239, 243, 267, 292, 297, 300, 318, 320, 322, 328, 330, 332 и 396, пронумерованных согласно системе нумерации EU в указанной последовательности. В одном варианте осуществления 1 или 2 аминокислотные замены введены в SEQ ID NO: 266 или 267. В одном варианте аминокислота 234 или 235, пронумерованная в соответствии с системой нумерации EU в SEQ ID NO: 266 или 267, была заменена. В другом варианте осуществления аминокислоты 234 и 235, пронумерованные в соответствии с системой нумерации EU в SEQ ID NO: 266 или 267, были заменены.

Эффекторный лиганд, аффинность к которому изменяется, может быть, например, Fc-рецептором или C1 компонентом комплемента. Этот подход более подробно описан в патентах США 5,624,821 и 5,648,260, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством отсылки. В одном из вариантов осуществления одна или больше аминокислотных замен могут быть введены в Fc-область молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, для удаления потенциальных сайтов

гликозилирования в Fc-области, что может снизить связывание с Fc-рецептором (см., например, публикацию Shields RL et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604, которая полностью включена в настоящий документ посредством отсылки). В одном из вариантов осуществления связывание с эффекторным лигандом снижено по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше не обнаруживается по сравнению со связыванием с тем же лигандом антитела, не имеющего каких-либо аминокислотных замен в константной Fc-области человеческого IgG.

В первом варианте осуществления в константную область молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, были введены одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU): замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E или замена P396L.

Во втором варианте осуществления в константную область молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, были введены одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU): замена L234A и/или L235A; замена L234A и L235A; замена L234A, L235A и P329G; замена L234A, L235A и G236K; замена L234A, L235A и G236E; замена L234A, L235A и G236R; замена L234A и G236R; замена L234A, L235S и G236R; замена L234A, L235T и G236R; замена L234D, L235H и G236R; L234D, замена L235K и G236R; замена L234D и G236R; замена L234D, L235Q и G236R; замена L234D, L235S и G236R; замена L234E, L235D и G236R; замена L234E, L235H и G236R; замена L234E, L235I и G236R; замена L234G, L235H и G236R; замена L234G, L235Q и G236R; замена L234G, L235S и G236R; замена L234H, L235I и G236R; замена L234H, L235S и G236R; замена L234K, L235Q и G236R; замена L234K, L235R и G236R; замена L234K, L235S и G236R; замена L234K, L235T и G236R; замена L234K, L235V и G236R; замена L234Q, L235A и G236R; замена L234Q, L235D и G236R; замена L234Q, L235H и G236R; замена L234Q и G236R; замена L234Q, L235Q и G236R; замена L234Q, L235R и G236R; замена L234Q, L235S и G236R; замена L234Q, L235T и G236R; замена L234Q, L235V и G236R; замена L234R, L235D и G236R; замена L234R, L235E и G236R; замена L234R, L235H и G236R; замена L234R, L235I и G236R; замена L234R, L235K и G236R; замена L234R и G236R; замена L234R, L235Q и G236R; замена L234R, L235R и G236R; замена L234R, L235T и G236R; замена L234S, L235E и G236R; замена L234S, L235G и G236R; замена L234S, L235H и G236R; замена L234S, L235I и G236R; замена L234S и G236R; замена L234S, L235R и G236R; замена L234S, L235T и

G236R; замена L234S, L235V и G236R; замена L234T, L235A и G236R; замена L234T, L235D и G236R, L234T, L235H и G236R; замена L234T, L235I и G236R; замена L234T, L235K и G236R; замена L234T, L235Q и G236R; замена L234T, L235R и G236R; замена L234T, L235S и G236R; замена L234T, L235T и G236R; замена L234T, L235V и G236R; замена G236R и L328R; замена L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S и P331S; замена E233P, L234V, L235A, делеция G326, замена A327G, A330S и P331S; замена L235A и G236R; замена L235S и G236R.

В третьем варианте осуществления в Fc-область SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, были введены одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU): замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E или замена P396L.

В четвертом варианте осуществления в Fc-область SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, были введены одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU): замена L234A и/или L235A; замена L234A и L235A; замена L234A, L235A и P329G; замена L234A, L235A и G236K; замена L234A, L235A и G236E; замена L234A, L235A и G236R; замена L234A и G236R; замена L234A, L235S и G236R; замена L234A, L235T и G236R; замена L234D, L235H и G236R; замена L234D, L235K и G236R; замена L234D и G236R; замена L234D, L235Q и G236R; замена L234D, L235S и G236R; замена L234E, L235D и G236R; замена L234E, L235H и G236R; замена L234E, L235I и G236R; замена L234G, L235H и G236R; замена L234G, L235Q и G236R; замена L234G, L235S и G236R; замена L234H, L235I и G236R; замена L234H, L235S и G236R; замена L234K, L235Q и G236R; замена L234K, L235R и G236R; замена L234K, L235S и G236R; замена L234K, L235T и G236R; замена L234K, L235V и G236R; замена L234Q, L235A и G236R; замена L234Q, L235D и G236R; замена L234Q, L235H и G236R; замена L234Q и G236R; замена L234Q, L235Q и G236R; замена L234Q, L235R и G236R; замена L234Q, L235S и G236R; замена L234Q, L235T и G236R; замена L234Q, L235V и G236R; замена L234R, L235D и G236R; замена L234R, L235E и G236R; замена L234R, L235H и G236R; замена L234R, L235I и G236R; замена L234R, L235K и G236R; замена L234R и G236R; замена L234R, L235Q и G236R; замена L234R, L235R и G236R; замена L234R, L235T и G236R; замена L234S, L235E и G236R; замена L234S, L235G и G236R; замена L234S, L235H и G236R;

замена L234S, L235I и G236R; замена L234S и G236R; замена L234S, L235R и G236R; замена L234S, L235T и G236R; замена L234S, L235V и G236R; замена L234T, L235A и G236R; замена L234T, L235D и G236R, L234T, L235H и G236R; замена L234T, L235I и G236R; замена L234T, L235K и G236R; замена L234T, L235Q и G236R; замена L234T, L235R и G236R; замена L234T, L235S и G236R; замена L234T, L235T и G236R; замена L234T, L235V и G236R; замена G236R и L328R; замена L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S и P331S; замена E233P, L234V, L235A, делеция G326, A327G, A330S и P331S; замена L235A и G236R; замена L235S и G236R.

В варианте осуществления в Fc-область SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, введены одна или больше следующих мутаций: замена L234A и/или L235A (пронумерованы согласно системе нумерации EU). В варианте осуществления в Fc-область SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, введены следующие мутации: замены L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU. Данный вариант осуществления приводит к получению молекулы на основе антитела с тяжелой цепью, представленной SEQ ID NO: 268 или 270.

Такое антитело с измененной, сниженной или даже устраненной эффекторной функцией является перспективным в контексте изобретения.

В варианте осуществления предложено антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, которое:

- представляет собой агонистическое антитело к MuSK и/или
- имеет сниженную или устраненную эффекторную функцию.

Такое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предпочтительно предназначено для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека.

В варианте осуществления предложено антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, которое:

- связывает последовательность Frizzled (Fz)-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 129,
- представляет собой агонистическое антитело к MuSK и
- имеет сниженную или устраненную эффекторную функцию.

Это антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предпочтительно предназначено для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека.

Сниженная или устраненная эффекторная функция может быть получена, как описано ранее в настоящем документе, путем введения мутации в константную Fc-область человеческого IgG. Предпочтительно в указанную Fc-область вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или 17 аминокислотных замен. Предпочтительно в указанную Fc-область вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4 аминокислотных замены.

Указанная Fc-область может включать SEQ ID NO: 266 или 267, при этом указанные замены вводят в аминокислотные положения, выбранные из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 238, 239, 243, 265, 267, 268, 292, 297, 300, 318, 320, 322, 327, 328, 329, 330, 331, 332 и 396, пронумерованные согласно системе нумерации EU указанной последовательности.

В варианте осуществления указанная Fc-область может включать SEQ ID NO: 266 или 267, при этом указанные замены вводят в аминокислотные положения, выбранные из аминокислотных остатков 234 или 235 указанной последовательности, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления указанная Fc-область может включать SEQ ID NO: 266 или 267, при этом указанные замены вводят в аминокислотные положения, выбранные из аминокислотных остатков 234 и 235, пронумерованные согласно системе нумерации EU указанной последовательности.

В варианте осуществления одну или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) вводят в константную Fc-область человеческого IgG SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E или замена P396L.

В одном варианте осуществления может быть сделана каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки в константной Fc-области человеческого IgG молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе.

В предпочтительном варианте осуществления в константную Fc-область человеческого IgG молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, вводят замену L234A или L235A. В более предпочтительном варианте осуществления в константную Fc-область человеческого IgG молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе, вводят замены L234A и L235A. Данный вариант осуществления приводит к получению молекулы на основе антитела с тяжелой цепью, представленной SEQ ID NO: 268 или 270.

В еще более предпочтительном варианте осуществления указанное антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент включает:

- а) переменный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную

последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234 и

b) вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

В данном контексте идентичность или подобие составляют по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%.

Предпочтительное антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент включает:

- a) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268, и
- b) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269.

Предпочтительное антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент включает:

- c) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 270 и
- d) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 271.

В варианте осуществления молекулы на основе антитела согласно настоящему изобретению "гуманизованы", в особенности, если они должны использоваться в терапевтических целях. Термин "гуманизованный" относится к химерной молекуле, обычно полученной при использовании рекомбинантных технологий, антигенсвязывающий участок которой происходит из иммуноглобулина не относящегося к человеку вида, а остальная структура иммуноглобулина основана на структуре и/или последовательности человеческого иммуноглобулина. Антигенсвязывающий участок может включать либо полные вариабельные домены нечеловеческих антител, слитые с человеческими константными доменами, либо только определяющие комплементарность области (CDR-области) таких вариабельных доменов, перевитые на человеческие каркасные области человеческих вариабельных доменов. Каркасные остатки таких гуманизованных молекул могут быть дикого типа (например, полностью человеческими) или они могут быть модифицированы так, чтобы они содержали одну или больше аминокислотных замен, не присутствующих в человеческом антителе, последовательность которого служила в качестве основы для гуманизации. Гуманизация уменьшает или устраняет вероятность того, что константная область молекулы будет действовать как иммуноген в организме человека, однако возможность иммунного ответа на чужеродную вариабельную область остается (LoBuglio, A.F. et al. "Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:4220-4224 (1989), которая настоящим полностью включена посредством отсылки). Другой подход сосредоточен не только на получении константных областей человеческого происхождения, но и на модификации вариабельных областей для их реконструкции максимально близко к человеческой форме. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат три определяющих комплементарность области (CDR-

области), которые отличаются в зависимости от рассматриваемых антигенов и определяют связывающую способность. CDR-области расположены между четырьмя каркасными областями (FR-областями), которые относительно консервативны у данного вида и могут служить в качестве каркаса для CDR-областей. Когда нечеловеческие антитела получают в отношении конкретного антигена, варьируемые области могут быть "реконструированы" или "гуманизированы" путем перевивания CDR-областей, полученных из нечеловеческого антитела, на FR-области, присутствующие в человеческом антителе, которое нужно модифицировать. Подходящие способы гуманизации нечеловеческого антитела, описанного в настоящем документе, известны в уровне техники, см., например, Sato, K. et al., *Cancer Res* 53:851-856 (1993); Riechmann, L. et al., "Reshaping Human Antibodies for Therapy", *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven, M. et al., "Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity", *Science* 239:1534-1536 (1988); Kettleborough, C. A. et al., "Humanization Of A Mouse Monoclonal Antibody By CDR-Grafting: The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation", *Protein Engineering* 4:773-3783 (1991); Maeda, H. et al., "Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity", *Human Antibodies Hybridoma* 2:124-134 (1991); Gorman, S. D. et al., "Reshaping A Therapeutic CD4 Antibody", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4181-4185 (1991); Tempest, P.R. et al., "Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection In Vivo", *Bio/Technology* 9:266-271 (1991); Co, M. S. et al., "Humanized Antibodies For Antiviral Therapy", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:2869-2873 (1991); Carter, P. et al., "Humanization Of An Anti-p185her2 Antibody For Human Cancer Therapy", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285-4289 (1992); и Co, M.S. et al., "Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33 Antigen", *J. Immunol.* 148:1149-1154 (1992), которые настоящим включены посредством отсылки во всей своей полноте. В некоторых вариантах осуществления гуманизированные антитела к MuSK настоящего изобретения сохраняют все CDR-последовательности (например, гуманизированное антитело, содержащее все шесть CDR-областей из антитела ламы или мыши). В других вариантах осуществления гуманизированные антитела к MuSK настоящего изобретения имеют одну или больше CDR-областей (одну, две, три, четыре, пять, шесть), которые изменены по сравнению с исходным антителом. Способы гуманизации антител известны в уровне техники и подходят для гуманизации антител, раскрытых в настоящем документе (см., например, патент США 5,225,539 за авторством Winter; патенты США 5,530,101 и 5,585,089 за авторством Queen и Selick; патент США 5,859,205 за авторством Robert et al.; патент США 6,407,213 за авторством Carter; и патент США 6,881,557 за авторством Foote, которые настоящим включены посредством отсылок во всей своей полноте).

В некоторых антителах только часть CDR, а именно подгруппа остатков CDR, требуемых для связывания, называемых "определяющими специфичность остатками" ("SDR-остатками"), необходима для сохранения связывания антитела. Остатки CDR, не контактирующие с антигеном и не входящие в SDR-остатки, могут быть идентифицированы на основе предыдущих исследований CDR-областей Кабата, лежащих

вне гипервариабельных петель Чотиа (см. публикации Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, National Institutes of Health Publication No. 91-3242 (1992); Chothia, C. et al., "Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins", J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), которые настоящим включены посредством отсылки во всей своей полноте), с помощью молекулярного моделирования и/или эмпирическим путем, или как описано в публикации Gonzales, N.R. et al., "SDR Grafting Of A Murine Antibody Using Multiple Human Germline Templates To Minimize Its Immunogenicity", Mol. Immunol. 41:863-872 (2004), которая настоящим включена посредством отсылки во всей полноте. В таких гуманизованных антителах, в положениях, в которых один или больше донорных остатков CDR отсутствуют или в которых полностью удалены донорные CDR, аминокислотный остаток, занимающий это положение, может быть аминокислотным остатком, занимающим соответствующее положение (согласно нумерации Кабата) в последовательности акцепторного антитела. Количество таких замен донорных аминокислот акцепторными в CDR-областях, которое нужно включать, отражает баланс конкурентных факторов. Такие замены потенциально выгодны для снижения количества нечеловеческих аминокислот в гуманизованном антителе и, следовательно, для снижения потенциальной иммуногенности. Однако замены также могут вызывать изменения аффинности, а значительных снижений аффинности предпочтительно стараются избегать. Замены могут также вызывать изменения активности. Такие замены, вызывающие значительное снижение активности, также предпочтительно избегают. В этом контексте антитело или фрагмент антитела все еще должны демонстрировать поддающуюся обнаружению активность антитела, как ранее определено в настоящем документе, или активность антитела, по меньшей мере, в некоторой степени. Положения для замены в CDR-областях и аминокислоты, подлежащие замене, также могут быть подобраны эмпирически.

Технология фагового дисплея в альтернативе может использоваться для повышения (или снижения) CDR аффинности молекул на основе антитела согласно настоящему изобретению. В этой технологии, называемой созревание аффинности, используют мутагенез или "CDR-прогулку" и повторный отбор с использованием антигена-мишени или его антигенного фрагмента для идентификации антител, имеющих CDR-области, которые связываются с более высокой (или более низкой) аффинностью с антигеном по сравнению с первоначальным или исходным антителом (см., например, публикацию Glaser et al., "Antibody Engineering By Codon-Based Mutagenesis In A Filamentous Phage Vector System", J. Immunology 149:3903-3913 (1992), которая настоящим включена посредством отсылки во всей своей полноте). Мутагенез полных кодонов, а не отдельных нуклеотидов, приводит к полурандомизированному репертуару аминокислотных мутаций. Могут быть созданы библиотеки, состоящие из пула вариантных клонов, каждый из которых отличается изменением одной аминокислоты в одной CDR из другого члена такой библиотеки и которые содержат варианты, потенциально представляющие каждую возможную аминокислотную замену для каждого

остатка CDR. Мутанты с повышенной (или пониженной) аффинностью связывания антигена можно подвергать скринингу путем приведения иммобилизованных мутантов в контакт с меченым антигеном. Любой метод скрининга, известный в уровне техники, можно использовать для идентификации вариантов связывающих молекул на основе антител с повышенной или пониженной аффинностью к антигену (например, ИФА) (см. публикации Wu, H. et al., "Stepwise In Vitro Affinity Maturation Of Vitaxin, An Alphav Beta3-Specific Humanized mAb", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:6037-6042 (1998); Yelton et al., "Affinity Maturation Of The BR96 Anti-Carcinoma Antibody By Codon-Based Mutagenesis", J. Immunology 155:1994 (1995), которые полностью включены в настоящий документ посредством отсылки). Может использоваться CDR-прогулка, которая рандомизирует легкую цепь (см. публикацию Schier, R. et al., "Isolation Of Picomolar Affinity Anti-c-erbB-2 Single-Chain Fv By Molecular Evolution Of The Complementarity Determining Regions In The Center Of The Antibody Binding Site", J. Mol. Biol. 263:551-567 (1996), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте).

Способы созревания аффинности молекулы антитела к MuSK описаны в настоящем документе и раскрыты, например, в публикациях Krause, J.C. et al., "An Insertion Mutation That Distorts Antibody Binding Site Architecture Enhances Function of a Human Antibody", MBio. 2(1): e00345-10 (2011); Kuan, C.T. et al., "Affinity-Matured Anti-Glycoprotein NMB Recombinant Immunotoxins Targeting Malignant Gliomas And Melanomas", Int. J. Cancer 10.1002/ijc.25645 (2010); Hackel, B.J. et al., "Stability And CDR Composition Biases Enrich Binder Functionality Landscapes", J. Mol. Biol. 401(1):84-96 (2010); Montgomery, D.L. et al., "Affinity Maturation And Characterization Of A Human Monoclonal Antibody Against HIV-1 gp41", MAbs 1(5):462-474 (2009); Gustchina, E. et al., "Affinity Maturation By Targeted Diversification Of The CDR-H2 Loop Of A Monoclonal Fab Derived From A Synthetic Naïve Human Antibody Library And Directed Against The Internal Trimeric Coiled-Coil Of Gp41 Yields A Set Of Fabs With Improved HIV-1 Neutralization Potency And Breadth", Virology 393(1):112-119 (2009); Finlay, W.J. et al., "Affinity Maturation Of A Humanized Rat Antibody For Anti-RAGE Therapy: Comprehensive Mutagenesis Reveals A High Level Of Mutational Plasticity Both Inside And Outside The Complementarity-Determining Regions", J. Mol. Biol. 388(3):541-558 (2009); Bostrom, J. et al., "Improving Antibody Binding Affinity And Specificity For Therapeutic Development", Methods Mol. Biol. 525:353-376 (2009); Steidl, S. et al., "In Vitro Affinity Maturation Of Human GM-CSF Antibodies By Targeted CDR-Diversification", Mol. Immunol. 46(1):135-144 (2008); и Barderas, R. et al., "Affinity Maturation Of Antibodies Assisted By In Silico Modeling", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105(26):9029-9034 (2008), которые настоящим включены посредством отсылок во всей своей полноте.

В рамках настоящей заявки аминокислотное изменение (изменение или модификация) может быть аминокислотной заменой, вставкой, делецией или химической модификацией.

В варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK, как описано в настоящем документе, включает аминокислотную последовательность любой одной, любых двух, любых трех, любых четырех, любых пяти или любых шести CDR-областей, представленных в Таблицах 1 и 2 в настоящем документе.

В одном варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает вариабельный домен тяжелой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

(i) определяющую комплементарность область 1 (CDR-H1), включающую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-16, 135, 136, 147-149 или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-16, 135, 136 или 147-149, где указанная модифицированная последовательность имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 1-16, 135, 136 или 147-149;

(ii) определяющую комплементарность область 2 (CDR-H2), включающую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 17-32, 137, 138, 150-155 или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 17-32, 137, 138 или 150-155, где указанная модифицированная последовательность имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 17-32, 137, 138, или 150-155; и

(iii) определяющую комплементарность область 3 (CDR-H3), включающую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 33-48, 139, 140, 156-158, 240-251 или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 33-48, 139, 140, 156-158 или 240-251, где указанная модифицированная последовательность имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 33-48, 139, 140, 156-158 или 240-251.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает: (i) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 1 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 17 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 17 и CDR-H3 SEQ ID NO: 33 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 33; (ii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 34 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 34; (iii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 3 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 3, CDR-H2 SEQ ID NO: 19 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по

CDR-H2 SEQ ID NO: 28 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 28, и CDR-H3 SEQ ID NO: 44 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 44; (xiii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 13 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 13, CDR-H2 SEQ ID NO: 29 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 29, и CDR-H3 SEQ ID NO: 45 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 45; (xiv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 14 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 14, CDR-H2 SEQ ID NO: 30 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 30, и CDR-H3 SEQ ID NO: 46 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 46; (xv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 15 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 15, CDR-H2 SEQ ID NO: 31 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 31, и CDR-H3 SEQ ID NO: 47 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 47; (xvi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 16 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 16, CDR-H2 SEQ ID NO: 32 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 32, и CDR-H3 SEQ ID NO: 48 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 48; (xvii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 137, и CDR-H3 SEQ ID NO: 139 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 139; и (xviii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 136 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 136, CDR-H2 SEQ ID NO: 138 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 138, и CDR-H3 SEQ ID NO: 140 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 140. Последовательности CDR-областей тяжелой цепи представлены в Таблице 1.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает: (ii.a) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 240 (X2m1) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 240; (ii.b) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных

изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 241 (X2m2) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 241; (ii.c) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 242 (X2m3) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 242; (ii.d) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 243 (X2m4) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 243; (ii.e) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 244 (X2m5) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 244; (ii.f) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 245 (X2m6) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 245; (ii.g) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 246 (X2m7) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 246; (ii.h) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 18, и CDR-H3 SEQ ID NO: 247 (X2m8) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 247.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает: (xvii.a) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 137, и CDR-H3 SEQ ID NO: 248 (X17m1) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 248; (xvii.b) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5

аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 137, и CDR-H3 SEQ ID NO: 249 (X17m2) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 249; (xvii.c) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 137, и CDR-H3 SEQ ID NO: 250 (X17m3) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 250; (xvii.d) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 137, и CDR-H3 SEQ ID NO: 251 (X17m6) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 251.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает вариабельный домен тяжелой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает: (xix) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 150, и CDR-H3 SEQ ID NO: 156 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156; (xx) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 148 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 148, CDR-H2 SEQ ID NO: 151 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 151, и CDR-H3 SEQ ID NO: 157 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 157; (xxi) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 152, и CDR-H3 SEQ ID NO: 158 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 158.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает вариабельный домен тяжелой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает: (xxii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 153 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и CDR-H3 SEQ ID NO: 156 (3B2g1m1/3B2g2m1) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156; (xxiii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

CDR-H2 SEQ ID NO: 154 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 154, и CDR-H3 SEQ ID NO: 156 (3B2g1m2/3B2g2m2) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156; (xxiv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 155 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 155, и CDR-H3 SEQ ID NO: 156 (3B2g1m4/3B2g2m4) или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156. Последовательности CDR-областей тяжелой цепи представлены в Таблице 1.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает: (i) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 17 и CDR-H3 SEQ ID NO: 33; (ii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 34; (iii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 3, CDR-H2 SEQ ID NO: 19 и CDR-H3 SEQ ID NO: 35; (iv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 4, CDR-H2 SEQ ID NO: 20 и CDR-H3 SEQ ID NO: 36; (v) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 5, CDR-H2 SEQ ID NO: 21 и CDR-H3 SEQ ID NO: 37; (vi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 6, CDR-H2 SEQ ID NO: 22 и CDR-H3 SEQ ID NO: 38; (vii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 7, CDR-H2 SEQ ID NO: 23 и CDR-H3 SEQ ID NO: 39; (viii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 8, CDR-H2 SEQ ID NO: 24 и CDR-H3 SEQ ID NO: 40; (ix) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 9, CDR-H2 SEQ ID NO: 25 и CDR-H3 SEQ ID NO: 41; (x) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 10, CDR-H2 SEQ ID NO: 26 и CDR-H3 SEQ ID NO: 42; (xi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 11, CDR-H2 SEQ ID NO: 27 и CDR-H3 SEQ ID NO: 43; (xii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 12, CDR-H2 SEQ ID NO: 28 и CDR-H3 SEQ ID NO: 44; (xiii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 13, CDR-H2 SEQ ID NO: 29 и CDR-H3 SEQ ID NO: 45; (xiv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 14, CDR-H2 SEQ ID NO: 30 и CDR-H3 SEQ ID NO: 46; (xv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 15, CDR-H2 SEQ ID NO: 31 и CDR-H3 SEQ ID NO: 47; (xvi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 16, CDR-H2 SEQ ID NO: 32 и CDR-H3 SEQ ID NO: 48; (xvii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 139; и (xviii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 136, CDR-H2 SEQ ID NO: 138 и CDR-H3 SEQ ID NO: 140. Последовательности CDR-последовательностей тяжелой цепи представлены в Таблице 1 ниже.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает: (ii.a) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 240 (X2m1); (ii.b) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 241 (X2m2); (ii.c) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 242 (X2m3); (ii.d) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 243 (X2m4); (ii.e) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 244 (X2m5); (ii.f) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 245 (X2m6); (ii.g) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 246 (X2m7); (ii.h) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 247 (X2m8).

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает: (xvii.a) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 248 (X17m1); (xvii.b) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 249 (X17m2); (xvii.c) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 250 (X17m3); (xvii.d) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 251 (X17m6).

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает переменный домен тяжелой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает: (xix) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156; (xx) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 148, CDR-H2 SEQ ID NO: 151 и CDR-H3 SEQ ID NO: 157; (xxi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 и CDR-H3 SEQ ID NO: 158.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает переменный домен тяжелой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает: (xxii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 153 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156 (3B2g1m1/3B2g2m1); (xxiii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 154 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156 (3B2g1m2/3B2g2m2); (xxiv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 155 и CDR-H3 SEQ ID NO:

156 (3B2g1m4/3B2g2m4). Последовательности последовательностей CDR тяжелой цепи представлены в Таблице 1 ниже.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает переменный домен тяжелой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 153 или аминокислотную последовательность CDR-H2, имеющую по меньшей мере 0, 1, 2, 3, 4 или 5 изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и CDR-H3 SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1). В варианте осуществления аминокислотная последовательность CDR-H2 имеет по меньшей мере 0, 1, 2, 3, 4 или 5 изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153. В соответствии с этим вариантом осуществления аминокислотная последовательность CDR-H2 имеет по меньшей мере 0, 1, 2, 3, 4 или 5 изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, где указанные изменения присутствуют в положениях остатков 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 или их любой комбинации.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает переменный домен тяжелой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,
- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и
- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1).

В варианте осуществления CDR-H2 антитела включает пролин (P) в положении 3, триптофан (W) в положении 4 и серин (S) или аспарагин (N) в положении 5.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает переменный домен тяжелой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,
- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и
- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1).

Последовательности CDR-последовательностей тяжелой цепи представлены в Таблице 1 ниже.

Название мАТ/Fab	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
X1	SSSIH	1	SISSSSGSTSYADSV KG	17	KYWSQYYWAHYYG GLDY	33
X2	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYMGMD Y	34
X2m1	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYFGFDY	240
X2m2	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYFGLDY	241
X2m3	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYSGFDY	242
X2m4	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYSGLDY	243
X2m5	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYFGMD Y	244
X2m6	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYSGMD Y	245
X2m7	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYMGFD Y	246
X2m8	SSSIH	2	SISSSYGSTSYADSV KG	18	SEGDRYVSGYMGLD Y	247
X3	SSSIH	3	SISSSSGYTTYADSV KG	19	SWYEMWMSGYFGFD Y	35
X4	SSSIH	4	SISSSSGSTYYADSV KG	20	GEHDYYVFGYLGMD Y	36
X5	SSSIH	5	SISSSSGSTSYADSV KG	21	SYTMFYGGWYGS YFGMDY	37
X6	SSSIH	6	SISSSYGYTTYADS VKG	22	TYGSYYVSSYTGMD Y	38
X7	SSSIH	7	SISSSYSSTYYADSV KG	23	LAGLYHYPGYLGLD Y	39
X8	SSSIH	8	SISSSSGSTSYADSV KG	24	SWSYHPWYYHVGV YTGLDY	40
X9	SSSIH	9	SIYSSSGSTYYADSV KG	25	SGGEFYITSYYGMDY	41
X10	SSSIH	10	SISSSYSSTSYADSV KG	26	KYYRWRHNKYQGFD Y	42
X11	SSSIH	11	SISSSYGSTYYADSV KG	27	SWGSYVSGFVGF Y	43
X12	SSSIH	12	YISPSSGYTSYADSV KG	28	QYWVPQWWITQYFG MDY	44
X13	SSSIH	13	SISSSSGSTSYADSV KG	29	SSEHWYTIGYYGIDY	45
X14	SSSIH	14	SISSSSGYTTYADSV KG	30	GSHHWFLWIYSGLD Y	46
X15	SSSIH	15	SISSSYGSTSYADSV	31	SEGDRYVSGYMGMD	47

			KG		Y	
X16	SSSIH	16	SIYSSYGYTSYADSV VKG	32	NWGYMYWGWYY ALDY	48
X17	YSSIH	135	SIYSSSGSTYYADSV KG	137	GDHGYYVFGYLGMD Y	139
X17m1	YSSIH	135	SIYSSSGSTYYADSV KG	137	GDHGYYVSGYLGMD Y	248
X17m2	YSSIH	135	SIYSSSGSTYYADSV KG	137	GDHGYYVYGYLGM DY	249
X17m3	YSSIH	135	SIYSSSGSTYYADSV KG	137	GDHGYYVSGYLGFD Y	250
X17m6	YSSIH	135	SIYSSSGSTYYADSV KG	137	GEHGYYVSGYLGFD Y	251
X18	SSSIH	136	SISSSGYTSYADSV KG	138	KYSKRAYPDYYWRG LDY	140
14D10	DYGMS	147	AIPWNGGSTYYKES VKG	150	RSGRIAFGALDA	156
7G4	DYGMS	147	AIPWNGGSTYYKES VKG	150	RSGRIAFGALDA	156
3C4	DYGMS	147	AIPWNGGSTYYKES VKG	150	RSGRIAFGALDA	156
3B2	DYGMS	147	AIPWNGGSTYYKES VKG	150	RSGRIAFGALDA	156
3G3	DYGMS	147	AIPWNGGSTYYKES VKG	150	RSGRIAFGALDA	156
31G2	DYGMS	147	AIPWNGGSTYYKES VKG	150	RSGRIAFGALDA	156
31B7	DYGMS	147	AIPWNGGSTYYKES VKG	150	RSGRIAFGALDA	156
17:10	ARYYSWS	148	VIAYDYGSTYYSPSL KS	151	GSSRVAAAFDS	157
23B6	ARYYSWS	148	VIAYDYGSTYYSPSL KS	151	GSSRVAAAFDS	157
30E1	ARYYSWS	148	VIAYDYGSTYYSPSL KS	151	GSSRVAAAFDS	157
30A11	ARYYSWS	148	VIAYDYGSTYYSPSL KS	151	GSSRVAAAFDS	157
16F11	LYYMN	149	VIDTHSIAYYADSV KG	152	GRTALVR	158
4C11	LYYMN	149	VIDTHSIAYYADSV KG	152	GRTALVR	158
7A12	LYYMN	149	VIDTHSIAYYADSV KG	152	GRTALVR	158
7G12	LYYMN	149	VIDTHSIAYYADSV KG	152	GRTALVR	158
7B8	LYYMN	149	VIDTHSIAYYADSV KG	152	GRTALVR	158
3B2g1m1	DYGMS	147	AIPWSSGGSTYYKES VKG	153	RSGRIAFGALDA	156
3B2g1m2	DYGMS	147	AIPGSSGGSTYYKES VKG	154	RSGRIAFGALDA	156

3B2g1m4	DYGMS	147	AIPWQGGSTYYKES VKG	155	RSGRIAFGALDA	156
3B2g2m1	DYGMS	147	AIPWSGGSTYYKES VKG	153	RSGRIAFGALDA	156
3B2g2m2	DYGMS	147	AIPGSGGSTYYKES VKG	154	RSGRIAFGALDA	156
3B2g2m4	DYGMS	147	AIPWQGGSTYYKES VKG	155	RSGRIAFGALDA	156

В некоторых вариантах осуществления молекулы на основе антитела к MuSK, раскрытые в настоящем документе, дополнительно включают переменный домен легкой цепи. Переменный домен легкой цепи включает:

(i) определяющую комплементарность область 1 (CDR-L1), имеющую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 49-64, 141, 142, 159-169 или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 49-64, 141, 142 или 159-169, где указанная модифицированная последовательность обладает по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 49-64, 141, 142 или 159-169;

(ii) определяющую комплементарность область 2 (CDR-L2), имеющую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-80, 143, 144, 170-179 или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-80, 143, 144 или 170-179, где указанная модифицированная последовательность обладает по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 65-80, 143, 144 или 170-179; и

(iii) определяющую комплементарность область 3 (CDR-L3), имеющую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 81-96, 145, 146, 180-195, или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 81-96, 145, 146, или 180-195, где указанная модифицированная последовательность обладает по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 81-96, 145, 146 или 180-195.

В некоторых вариантах осуществления молекулы на основе антитела к MuSK, раскрытые в настоящем документе, дополнительно включают переменный домен легкой цепи. Переменный домен легкой цепи включает:

(iv) определяющую комплементарность область 1 (CDR-L1), имеющую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 49-64, 141, 142, 159-169, или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 49-64, 141, 142 или 159-169, где указанная модифицированная последовательность имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с любой из SEQ ID NO: 49-64, 141, 142 или 159-169;

(v) определяющую комплементарность область 2 (CDR-L2), имеющую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-80, 143, 144, 170-179 или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-80, 143, 144 или 170-179, где указанная модифицированная последовательность имеет 1, 2, 3,

4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с любой из SEQ ID NO: 65-80, 143, 144 или 170-179; и

(vi) определяющую комплементарность область 3 (CDR-L3), имеющую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 81-96, 145, 146, 180-195 или модифицированную аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 81-96, 145, 146 или 180-195, где указанная модифицированная последовательность имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с любой из SEQ ID NO: 81-96, 145, 146 или 180-195.

В варианте осуществления переменный домен легкой цепи молекула на основе антитела к MuSK, раскрытой в настоящем документе, включает: (i) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 49 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 49, CDR-L2 SEQ ID NO: 65 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 65, и CDR-L3 SEQ ID NO: 81 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 81; (ii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 66, и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 82; (iii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 51 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 51, CDR-L2 SEQ ID NO: 67 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 67, и CDR-L3 SEQ ID NO: 83 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 83; (iv) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 52 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 52, CDR-L2 SEQ ID NO: 68 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 68, и CDR-L3 SEQ ID NO: 84 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 84; (v) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 53 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 53, CDR-L2 SEQ ID NO: 69 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 69, и CDR-L3 SEQ ID NO: 85 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 85; (vi) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 54 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 54, CDR-L2 SEQ ID NO: 70 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 70, и CDR-L3 SEQ ID NO: 86 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 86; (vii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 55 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 55, CDR-L2 SEQ ID NO: 71 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 71, и

изменений по сравнению с SEQ ID NO: 80, и CDR-L3 SEQ ID NO: 96 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 96; (xvii) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 143, и CDR-L3 SEQ ID NO: 145 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 145; (xviii) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 142 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 142, CDR-L2 SEQ ID NO: 144 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 144, и CDR-L3 SEQ ID NO: 146 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 146. Последовательности CDR-областей легкой цепи представлены в Таблице 2 ниже.

В варианте осуществления варибельный домен легкой цепи молекулы на основе антитела к MuSK, раскрытой в настоящем документе, включает: (xix) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 170 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 170, и CDR-L3 SEQ ID NO: 180 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 180; (xx) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 171, и CDR-L3 SEQ ID NO: 181 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 181; (xxi) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 160 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 160, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и CDR-L3 SEQ ID NO: 182 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 182; (xxii) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 183; (xxiii) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 171, и CDR-L3 SEQ ID NO: 184 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 184; (xxiv) варибельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 173 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по

имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 168, CDR-L2 SEQ ID NO: 178 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 178, и CDR-L3 SEQ ID NO: 193 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 193; (xxxiii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 169 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 169, CDR-L2 SEQ ID NO: 179 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 179, и CDR-L3 SEQ ID NO: 194 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 194.

В варианте осуществления переменный домен легкой цепи молекулы на основе антитела к MuSK, раскрытой в настоящем документе, включает: (i) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 49, CDR-L2 SEQ ID NO: 65 и CDR-L3 SEQ ID NO: 81; (ii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82; (iii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 51, CDR-L2 SEQ ID NO: 67 и CDR-L3 SEQ ID NO: 83; (iv) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 52, CDR-L2 SEQ ID NO: 68 и CDR-L3 SEQ ID NO: 84; (v) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 53, CDR-L2 SEQ ID NO: 69 и CDR-L3 SEQ ID NO: 85; (vi) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 54, CDR-L2 SEQ ID NO: 70 и CDR-L3 SEQ ID NO: 86; (vii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 55, CDR-L2 ID NO: 71 и CDR-L3 SEQ ID NO: 87; (viii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 56, CDR-L2 SEQ ID NO: 72 и CDR-L3 SEQ ID NO: 88; (ix) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 57, CDR-L2 SEQ ID NO: 73 и CDR-L3 SEQ ID NO: 89; (x) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 58, CDR-L2 SEQ ID NO: 74 и CDR-L3 SEQ ID NO: 90; (xi) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 59, CDR-L2 SEQ ID NO: 75 и CDR-L3 SEQ ID NO: 91; (xii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 60, CDR-L2 SEQ ID NO: 76 и CDR-L3 SEQ ID NO: 92; (xiii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 61, CDR-L2 SEQ ID NO: 77 и CDR-L3 SEQ ID NO: 93; (xiv) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 62, CDR-L2 SEQ ID NO: 78 и CDR-L3 SEQ ID NO: 94; (xv) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 63, CDR-L2 SEQ ID NO: 79 и CDR-L3 SEQ ID NO: 95; (xvi) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 64, CDR-L2 SEQ ID NO: 80 и CDR-L3 SEQ ID NO: 96; (xvii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 и CDR-L3 SEQ ID NO: 145; (xviii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 142, CDR-L2 SEQ ID NO: 144 и CDR-L3 SEQ ID NO: 146. Последовательности CDR-областей легкой цепи представлены в Таблице 2 ниже.

В варианте осуществления переменный домен легкой цепи молекулы на основе антитела к MuSK, раскрытой в настоящем документе, включает: (xix) переменный

домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 170 и CDR-L3 SEQ ID NO: 180; (xx) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 и CDR-L3 SEQ ID NO: 181; (xxi) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 160, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 182; (xxii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183; (xxiii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 и CDR-L3 SEQ ID NO: 184; (xxiv) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 173 и CDR-L3 SEQ ID NO: 185; (xxv) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 173 и CDR-L3 SEQ ID NO: 186; (xxvi) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 161, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 187; (xxvii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 162, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 188; (xxviii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 163, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 188; (xxix) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 164, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 189; (xxx) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 165, CDR-L2 SEQ ID NO: 175 и CDR-L3 SEQ ID NO: 190; (xxxi) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 166, CDR-L2 SEQ ID NO: 176 и CDR-L3 SEQ ID NO: 191; (xxxii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 167, CDR-L2 SEQ ID NO: 177 и CDR-L3 SEQ ID NO: 192; (xxxiii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 168, CDR-L2 SEQ ID NO: 178 и CDR-L3 SEQ ID NO: 193; (xxxiiii) переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 169, CDR-L2 SEQ ID NO: 179 и CDR-L3 SEQ ID NO: 194.

В варианте осуществления переменный домен легкой цепи молекулы на основе антитела к MuSK, раскрытой в настоящем документе, включает CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 195 или CDR-L3, имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 195, где указанное изменение присутствует в положении остатка 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 или их любой комбинации.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает переменный домен легкой цепи, где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,
- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и
- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195

(3B2g2m1).

В варианте осуществления аминокислотная последовательность CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 имеет по меньшей мере 0, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159, 172 или 195 (соответственно).

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает переменный домен легкой цепи, где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

Последовательности CDR-последовательностей легкой цепи представлены в Таблице 2 ниже.

Название мАт/Fab	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
X1	RASQSVSSAVA	49	SASSLYS	65	QQSSSSLIT	81
X2	RASQSVSSAVA	50	SASSLYS	66	QQSGVWLIT	82
X3	RASQSVSSAVA	51	SASSLYS	67	QQSSSSLIT	83
X4	RASQSVSSAVA	52	SASSLYS	68	QQSYKPGALIT	84
X5	RASQSVSSAVA	53	SASSLYS	69	QQSSSSLIT	85
X6	RASQSVSSAVA	54	SASSLYS	70	QQSSSSLIT	86
X7	RASQSVSSAVA	55	SASSLYS	71	QQSSRSSLIT	87
X8	RASQSVSSAVA	56	SASSLYS	72	QQSSSSLIT	88
X9	RASQSVSSAVA	57	SASSLYS	73	QQSSSSLIT	89
X10	RASQSVSSAVA	58	SASSLYS	74	QQSLWYPVT	90
X11	RASQSVSSAVA	59	SASSLYS	75	QQNSYYLIT	91
X12	RASQSVSSAVA	60	SASSLYS	76	QQSSSSLIT	92
X13	RASQSVSSAVA	61	SASSLYS	77	QQSYGSFSLIT	93
X14	RASQSVSSAVA	62	SASSLYS	78	QQGSYHLIT	94
X15	RASQSVSSAVA	63	SASSLYS	79	QQSGVWLIT	95
X16	RASQSVSSAVA	64	SASSLYS	80	QQWSSAQALIT	96
X17	RASQSVSSAVA	141	SASSLYS	143	QQSYKPGALIT	145
X18	RASQSVSSAVA	142	SASSLYS	144	QQSYWWPIT	146
14D10	GLSSGSVTSSNYPD	159	TTNSRHS	170	ALYMGGGSNVYV	180
7G4	GLSSGSVTSSNYPD	159	STNSRHS	171	ALYMGRGSNKDYV	181
3C4	GLSSGSVTASNYPD	160	STDSRHS	172	ALYMYSDSKLYV	182
3B2	GLSSGSVTSSNYPD	159	STDSRHS	172	GLYMYSGSKNYV	183
3G3	GLSSGSVTSSNYPD	159	STNSRHS	171	ALYMGSDIRNYV	184
31G2	GLSSGSVTSSNYPD	159	STNSRHS	173	ALYMGSGSRNYV	185

31B7	GLSSGSVTSSNYPD	159	STNSRLS	173	ALYMGSESRNYV	186
17:10	GGNRIGGKSVQ	161	ADSRRPS	174	HVWGSTASAD	187
23B6	GGDNIGSKNAQ	162	ADSRRPS	174	HVWDSSTNAW	188
30E1	GGDNIGSKNTQ	163	ADSRRPS	174	HVWDSSTNAW	188
30A11	GGDNIASKNVQ	164	ADSRRPS	174	QVWDSSTNVAV	189
16F11	KSSQSVVFGSNQKSYLN	165	YASTQES	175	QQAYSAPT	190
4C11	RSSQSVLYSSNQKNYLN	166	WASARES	176	QQSYKPPYG	191
7A12	ESSQSVLYNQKNYLN	167	WASTRQS	177	QQAYNAPLT	192
7G12	KSSQRVQLGSNQKSYLN	168	YASTQQS	178	QQGYSAPFT	193
7B8	KSSQSVLYNQKNYLA	169	WASTRES	179	QQGYSVPYT	194
3B2g1m1	GLSSGSVTSSNYPD	159	STDSRHS	172	GLYMYSGSKNYV	183
3B2g1m2	GLSSGSVTSSNYPD	159	STDSRHS	172	GLYMYSGSKNYV	183
3B2g1m4	GLSSGSVTSSNYPD	159	STDSRHS	172	GLYMYSGSKNYV	183
3B2g2m1	GLSSGSVTSSNYPD	159	STDSRHS	172	GLYSYSGSKNYV	195
3B2g2m2	GLSSGSVTSSNYPD	159	STDSRHS	172	GLYSYSGSKNYV	195
3B2g2m4	GLSSGSVTSSNYPD	159	STDSRHS	172	GLYSYSGSKNYV	195

Подходящие аминокислотные модификации в CDR-последовательностях тяжелой цепи и/или CDR-последовательностях легкой цепи молекулы на основе антитела к MuSK, раскрытой в настоящем документе, включает, например, консервативные замены или функционально эквивалентные замены аминокислотных остатков, которые приводят к получению вариантных CDR-последовательностей, имеющих аналогичные или улучшенные характеристики связывания по сравнению с CDR-последовательностями, раскрытыми в настоящем документе, как описано выше. Настоящее изобретение охватывает CDR-области в Таблицах 1 и 2, содержащие 1, 2, 3, 4, 5 или больше аминокислотных изменений (в зависимости от длины CDR), которые сохраняют или улучшают связывание антитела с MuSK. Подходящие аминокислотные модификации в CDR-последовательностях тяжелой цепи в Таблице 1 и/или в CDR-последовательностях легкой цепи в Таблицах 1 и 2 включают, например, консервативные замены или функционально эквивалентные замены аминокислотных остатков, которые приводят к получению вариантных CDR-последовательностей, имеющих аналогичные или улучшенные характеристики связывания по сравнению с CDR-последовательностями в Таблице 1 и Таблице 2. Консервативные замены - это замены, сделанные в семействе аминокислот, имеющих сходные боковые цепи. Генетически кодируемые аминокислоты могут быть подразделены на четыре семейства: (1) кислотные (аспартат, глутамат); (2) основные (лизин, аргинин, гистидин); (3) неполярные (аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан); и (4) незаряженные полярные (глицин, аспарагин, глутамин, цистеин, серин, треонин, тирозин). Фенилаланин, триптофан и тирозин иногда совместно относят к классу ароматических аминокислот. В альтернативе репертуар аминокислот может быть подразделен на следующие группы: (1) кислотные

(аспаратат, глутамат); (2) основные (лизин, гистидин, аргинин), (3) алифатические (глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, серин, треонин), причем серин и треонин необязательно включают в отдельную группу алифатических гидроксилсодержащих аминокислот; (4) ароматические (фенилаланин, тирозин, триптофан); (5) амидсодержащие (аспарагин, глутамин); и (6) серасодержащие (цистеин и метионин) (Stryer (ed.), *Biochemistry*, 2nd ed, WH Freeman and Co., 1981, которая настоящим полностью включена посредством отсылки). Неконсервативные замены также могут быть сделаны в CDR-последовательностях тяжелой цепи в Таблице 1 и в CDR-последовательностях легкой цепи в Таблице 2. Неконсервативные замены включают замену одного или больше аминокислотных остатков в CDR одним или больше аминокислотными остатками из другого класса аминокислот с целью улучшения связывающих свойств CDR. Аминокислотные последовательности CDR-областей тяжелой цепи в Таблице 1 и/или CDR-областей легкой цепи в Таблице 2 могут дополнительно включать одну или больше внутренних вставок или делеций нейтральных аминокислот, которые сохраняют или улучшают связывание MuSK.

В варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK включает:

- (i) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 17 и CDR-H3 SEQ ID NO: 33, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 49, CDR-L2 SEQ ID NO: 65 и CDR-L3 SEQ ID NO: 81;
- (ii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 34, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82;
- (iii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 3, CDR-H2 SEQ ID NO: 19 и CDR-H3 SEQ ID NO: 35, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 51, CDR-L2 SEQ ID NO: 67 и CDR-L3 SEQ ID NO: 83;
- (iv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 4, CDR-H2 SEQ ID NO: 20 и CDR-H3 SEQ ID NO: 36, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 52, CDR-L2 SEQ ID NO: 68 и CDR-L3 SEQ ID NO: 84;
- (v) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 5, CDR-H2 SEQ ID NO: 21 и CDR-H3 SEQ ID NO: 37, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 53, CDR-L2 SEQ ID NO: 69 и CDR-L3 SEQ ID NO: 85;
- (vi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 6, CDR-H2 SEQ ID NO: 22 и CDR-H3 SEQ ID NO: 38, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 54, CDR-L2 SEQ ID NO: 70 и CDR-L3 SEQ ID NO: 86;
- (vii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 7, CDR-H2 SEQ ID NO: 23 и CDR-H3 SEQ ID NO: 39, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 55, CDR-L2 SEQ ID NO: 71 и CDR-L3 SEQ ID NO: 87;
- (viii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 8, CDR-H2 SEQ ID NO: 24 и CDR-H3 SEQ ID NO: 40, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 56, CDR-L2 SEQ ID NO: 72 и CDR-L3 SEQ ID NO: 88;

(ix) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 9, CDR-H2 SEQ ID NO: 25 и CDR-H3 SEQ ID NO: 41, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 57, CDR-L2 SEQ ID NO: 73 и CDR-L3 SEQ ID NO: 89;

(x) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 10, CDR-H2 SEQ ID NO: 26 и CDR-H3 SEQ ID NO: 42, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 58, CDR-L2 SEQ ID NO: 74 и CDR-L3 SEQ ID NO: 90;

(xi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 11, CDR-H2 SEQ ID NO: 27 и CDR-H3 SEQ ID NO: 43, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 59, CDR-L2 SEQ ID NO: 75 и CDR-L3 SEQ ID NO: 91;

(xii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 12, CDR-H2 SEQ ID NO: 28 и CDR-H3 SEQ ID NO: 44, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 60, CDR-L2 SEQ ID NO: 76 и CDR-L3 SEQ ID NO: 92;

(xiii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 13, CDR-H2 SEQ ID NO: 29 и CDR-H3 SEQ ID NO: 45, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 61, CDR-L2 SEQ ID NO: 77 и CDR-L3 SEQ ID NO: 93;

(xiv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 14, CDR-H2 SEQ ID NO: 30 и CDR-H3 SEQ ID NO: 46, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 62, CDR-L2 SEQ ID NO: 78 и CDR-L3 SEQ ID NO: 94;

(xv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 15, CDR-H2 SEQ ID NO: 31 и CDR-H3 SEQ ID NO: 47, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 63, CDR-L2 SEQ ID NO: 79 и CDR-L3 SEQ ID NO: 95;

(xvi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 16, CDR-H2 SEQ ID NO: 32 и CDR-H3 SEQ ID NO: 48, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 64, CDR-L2 SEQ ID NO: 80 и CDR-L3 SEQ ID NO: 96;

(xvii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 139, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 и CDR-L3 SEQ ID NO: 145; и

(xviii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 136, CDR-H2 SEQ ID NO: 138 и CDR-H3 SEQ ID NO: 140, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 142, CDR-L2 SEQ ID NO: 144 и CDR-L3 SEQ ID NO: 146.

В варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK включает:

(ii.a) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 240, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 (X2m1);

(ii.b) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 241, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82

(X2m2);

(ii.c) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 242, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 (X2m3);

(ii.d) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 243, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 (X2m4);

(ii.e) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 244, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 (X2m5);

(ii.f) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 245, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 (X2m6);

(ii.g) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 246, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 (X2m7);

(ii.f) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 247, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82 (X2m8).

В варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK включает:

(xvii.a) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 248, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 и CDR-L3 SEQ ID NO: 145 (X17m1);

(xvii.b) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 249, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 и CDR-L3 SEQ ID NO: 145 (X17m2);

(xvii.c) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 250, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 и CDR-L3 SEQ ID NO: 145 (X17m3);

(xvii.d) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 251, и вариабельный домен легкой цепи,

включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 и CDR-L3 SEQ ID NO: 145 (X17m6).

В варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK включает:

(i) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 170 и CDR-L3 SEQ ID NO: 180 (14D10);

(ii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 и CDR-L3 SEQ ID NO: 181 (7G4);

(iii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 160, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 182 (3C4);

(iv) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 (3B2);

(v) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 и CDR-L3 SEQ ID NO: 184 (3G3);

(vi) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 173 и CDR-L3 SEQ ID NO: 185 (31G2);

(vii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 173 и CDR-L3 SEQ ID NO: 186 (31B7);

(viii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 148, CDR-H2 SEQ ID NO: 151 и CDR-H3 SEQ ID NO: 157, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 161, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 187 (17:10);

(ix) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 148, CDR-H2 SEQ ID NO: 151 и CDR-H3 SEQ ID NO: 157, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 162, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 188 (23B6);

(x) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 148,

CDR-H2 SEQ ID NO: 151 и CDR-H3 SEQ ID NO: 157, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 163, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 188 (30E1);

(xi) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 148, CDR-H2 SEQ ID NO: 151 и CDR-H3 SEQ ID NO: 157, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 164, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 189 (30A11);

(xii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 и CDR-H3 SEQ ID NO: 158, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 165, CDR-L2 SEQ ID NO: 175 и CDR-L3 SEQ ID NO: 190 (16F11);

(xiii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 и CDR-H3 SEQ ID NO: 158, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 166, CDR-L2 SEQ ID NO: 176 и CDR-L3 SEQ ID NO: 191 (4C11);

(xiv) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 и CDR-H3 SEQ ID NO: 158, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 167, CDR-L2 SEQ ID NO: 177 и CDR-L3 SEQ ID NO: 192 (7A12);

(xv) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 и CDR-H3 SEQ ID NO: 158, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 168, CDR-L2 SEQ ID NO: 178 и CDR-L3 SEQ ID NO: 193 (7G12);

(xvi) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 и CDR-H3 SEQ ID NO: 158, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 169, CDR-L2 SEQ ID NO: 179 и CDR-L3 SEQ ID NO: 194 (7B8);

(xvii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 153 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 (3B2g1m1);

(xviii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 154 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 (3B2g1m2);

(xvix) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 155 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 (3B2g1m4);

(xx) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147,

CDR-H2 SEQ ID NO: 153 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1);

(xxi) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 154 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 195 (3B2g2m2); и

(xxii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 155 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 195 (3B2g2m4)

В предпочтительном варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления CDR-H2 антитела включает пролин (P) в положении 3, триптофан (W) в положении 4 и серин (S) или аспарагин (N) в положении 5.

В более предпочтительном варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

Молекула на основе антитела к MuSK, как описано в настоящем документе, может включать переменную легкую (VL) цепь, переменную тяжелую (VH) цепь или комбинацию VH и VL цепей. В некоторых вариантах осуществления цепь VH молекулы на основе антитела к MuSK включает любую из аминокислотных последовательностей VH, представленных в Таблице 3 ниже, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 61%, по меньшей мере на 62%, по меньшей мере на 63%, по меньшей мере на 64%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 66%, по меньшей мере на 67%, по меньшей мере на 68%, по меньшей мере на 69%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 71%, по меньшей мере на 72%, по меньшей мере на 73%, по меньшей мере на 74%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 76%, по меньшей мере на 77%, по меньшей мере на 78%, по меньшей мере на 79%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% идентична или подобна любой из аминокислотных последовательностей VH, перечисленных в Таблице 3. В некоторых вариантах осуществления цепь VL молекулы на основе антитела к MuSK включает любую из аминокислотных последовательностей VL, представленных в Таблице 3 ниже, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 60% идентична или подобна любой из аминокислотных последовательностей VL, перечисленных в Таблице 3. В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%,

по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%.

Название МАТ/Fab	Домен	Последовательность	SEQ ID NO:
X1	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSSGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARKYWSQYYWAHYYGGLDYW GGTTLTVSS	97
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQSSSSLITFGQGTKVEIK	98
X2	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYMGMDYWGQ GTLTVSS	99
X2m1	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYFGFDYWGQGT LTVSS	252
X2m2	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYFGLDYWGQG TLTVSS	253
X2m3	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYSGFDYWGQGT LTVSS	254
X2m4	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYSGLDYWGQG TLTVSS	255
X2m5	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYFGMDYWGQG TLTVSS	256
X2m6	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYSGMDYWGQG TLTVSS	257
X2m7	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYMGFDYWGQG TLTVSS	258
X2m8	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYMGGLDYWGQG TLTVSS	259

Название мАт/Fab	Домен	Последовательность	SEQ ID NO:
X2	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSGVWLITFGQGTKVEIK	100
X3	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSSGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSWYEMWMSGYFGFDYWGQ GTLVTVSS	101
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSSSLITFGQGTKVEIK	102
X4	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARGEHDYYVFGYLGMDYWGQG TLVTVSS	103
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYKPGALITFGQGTKVEIK	104
X5	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSSGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSYTMFYGGWYGSYFGMD YWGQGTTLVTVSS	105
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSSSLITFGQGTKVEIK	106
X6	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSYSGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARTYGSYYVSSYTGMDYWGQG TLVTVSS	107
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSSSLITFGQGTKVEIK	108
X7	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLYSSSIHWVRQ APKGLEWVASISSSYSSTYYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARLAGLYHYPGYLGLDYWGQ GTLVTVSS	109
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSSRSSLITFGQGTKVEIK	110
X8	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSSGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSWSYHPWYYHVGWYTGLDY WGQGTTLVTVSS	111
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSSSLITFGQGTKVEIK	112
X9	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSIHWVRQA PGKGLEWVASIYSSSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSGGEFYITSYYGMDYWGQGT LTVTVSS	113

Название мАт/Fab	Домен	Последовательность	SEQ ID NO:
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSSSSLITFGQGTKVEIK	114
X10	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSYSSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARKYYRWRHNKYQGFQDYWGQ GTLVTVSS	115
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSLWYPVTFGQGTKVEIK	116
X11	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSYSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSWGSYYVSGFVGFQDYWGQ TLVTVSS	117
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQNSYYLITFGQGTKVEIK	118
X12	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSSSIHWVRQA PGKGLEWVAYISPSSGYTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARQYWVPQWWITQYFGMDYW GQGTTLVTVSS	119
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSSSSLITFGQGTKVEIK	120
X13	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSSGTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSSEHWYTIGYYGIDYWGQGT LTVTVSS	121
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYGSFSLITFGQGTKVEIK	122
X14	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSSGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARGSHHWFLWIYSGLDYWGQ TLVTVSS	123
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQGSYHLITFGQGTKVEIK	124
X15	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASISSSYGSTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSEGDRYVSGYMGMDYWGQ GTLVTVSS	125
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSGVWLITFGQGTKVEIK	126
X16	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSSIHWVRQA PGKGLEWVASIYSSYGYTSYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARNWGYMYWGWYALDYW GQGTTLVTVSS	127

Название мАТ/Fab	Домен	Последовательность	SEQ ID NO:
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSAQALITFGQGTKVEIK	128
X17	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISYSSIHWVRQAPGKGLEWVASIYSSSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDHGYYVFGYLGMDYWGQGTLVTVSS	131
X17m1	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISYSSIHWVRQAPGKGLEWVASIYSSSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDHGYYVSGYLGMDYWGQGTLVTVSS	260
X17m2	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISYSSIHWVRQAPGKGLEWVASIYSSSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDHGYYVYGYLGMDYWGQGTLVTVSS	261
X17m3	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISYSSIHWVRQAPGKGLEWVASIYSSSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDHGYYVSGYLGFDYWGQGTTLVTVSS	262
X17m6	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISYSSIHWVRQAPGKGLEWVASIYSSSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEHGYYVSGYLGFDYWGQGTTLVTVSS	263
X17	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYKPGALITFGQGTKVEIK	132
X18	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSSIHWVRQAPGKGLEWVASISSSGYTSYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARKYSKRAYPDYYWRGLDYWQGTLVTVSS	133
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYWWPITFGQGTKVEIK	134
14D10	VH	ELQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWVSAIPWNGGSTYYKESVKGRFTISRDNACKTLYLQMNSLKSEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGT LVTVSS	196
	VL	QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQTTPGQAPRTLITNSRHSVPSRFSGSGNKAALTITGAQPEDEADYYCALYMGGSNVYVFGGGTKLTVL	197
7G4	VH	ELQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWVSAIPWNGGSTYYKESVKGRFTISRDNACKTLYLQMNSLKSEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGT LVTVSS	198
	VL	QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQTTPGQAPRALIYSTNSRHSVPSRFSGSGNKAALTITGAQPEDEADYYCALYMGGRGSKNDYVFGGGTKLTVL	199

Название мАт/Fab	Домен	Последовательность	SEQ ID NO:
3C4	VH	ELQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVR QAPGKGLEWVSAIPWNGGSTYYKESVKGRFTISRDNACK TLYLQMNSLKSEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGT LVTVSS	200
	VL	QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTASNYPDWYQ QTPGQAPRGLIYSTDSRHSVPSRFGSISGNKAALTITGA QPEDEADYYCALYMYSDSKLYVFGGGTKLTVL	201
3B2	VH	ELQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVR QAPGKGLEWVSAIPWNGGSTYYKESVKGRFTISRDNACK TLYLQMNSLKSEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGT LVTVSS	202
	VL	QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQ QTPGQAPRGLIYSTDSRHSVPSRFGSISGNKAALTITGA QSEDEADYYCGLYMYSGSKNYVFGGGTKLTVL	203
3G3	VH	ELQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVR QAPGKGLEWVSAIPWNGGSTYYKESVKGRFTISRDNACK TLYLQMNSLKSEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGT LVTVSS	204
	VL	QTVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQ TPGQAPRALIYSTNSRHSVPSRFGSTSGNKAALTITGAQ PEDEADYYCALYMGSDIRNYVFGGGTKLTVL	205
31G2	VH	ELQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVR QAPGKGLEWVSAIPWNGGSTYYKESVKGRFTISRDNACK TLYLQMNSLKSEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGT LVTVSS	206
	VL	QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQ QTPGQAPRALIYSTNSRSLSGVPSRFGSFSGNKAALTITGA QPEDEADYYCALYMGSGSRNYVFGGGTKLTVL	207
31B7	VH	ELQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVR QAPGKGLEWVSAIPWNGGSTYYKESVKGRFTISRDNACK TLYLQMNSLKSEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGT LVTVSS	208
	VL	QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQ QTPGQAPRALIYSTNSRSLSGVPSRFGSFSGNKAALTITGA QPEDEADYYCALYMGSESRNYVFGGGTKLTVL	209
17:10	VH	QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITARYYSWSWIR QPPGKGLEWMGVIA YDGSTYYSPSLKSRTSISRDTSKNQF SLHLSSVTPDDTAVYYCARGSSRVAAAFDSWGQGTQVT VSS	210
	VL	SYELTQSPSVSVALRQTAKITCGGNRIGGKSVQWYQQKP GQAPMLVIYADSRRPSGIPERFTGSNSGNTATLTITGAQAE DEADYYCHVWGSTASADFGGGTHLTVL	211
23B6	VH	QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITARYYSWSWIR QPPGKGLEWMGVIA YDGSTYYSPSLKSRTSISRDTSKNQF SLHLSSVTPDDTAVYYCARGSSRVAAAFDSWGQGTQVT VSS	212
	VL	SYELTQSPSVSVALRQTAKITCGGDNIGSKNAQWYQQKP GQAPVMVLYADSRRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGAQA EDEADYYCHVWDSSTNAWFGGGTHLTVL	213

Название мАт/Fab	Домен	Последовательность	SEQ ID NO:
30E1	VH	QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITARYYSWSWIR QPPGKGLEWMGVIA YDGSTYYSPSLKSRTSISRDTSKNQF SLHLSSVTPDDTAVYYCARGSSRVAAAFDSWGQGTQVT VSS	214
	VL	SYELTQSPSVSVALRRTAKITCGGDNIGSKNTQWYQQKP GQAPVLVIYADSRRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGAQAE DEADYYCHVWDSSTNAWFGGGTHLTVL	215
30A11	VH	QVQVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITARYYSWSWIR QPPGKGLEWMGVIA YDGSTYYSPSLKSRTSISRDTSKNQF SLHLSSVTPDDTAVYYCARGSSRVAAAFDSWGQGTQVT VSS	216
	VL	SYELTQSPSVTVALRQTAKITCGGDNIASKNVQWYQQKP GQAPSLVIWADSRRPSGIPVRFSGSNFGNTATLTISGAQAE DEADYYCQVWDSSTNVAVFGGGTHLTVL	217
16F11	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLSLSCVASGFTFSLYYMNWVRQ APGKGLEWLSVIDTHSIAYYADSVKGRFTISRDNVKNTLY LQLNNLKPEDTALYYCVLGR TALVRWGQGTQVTVSS	218
	VL	DIVMTQSPSSVTASVGEKVTINCKSSQSVVFGSNQKSYLN WYQQRPGQSPRLLIYASTQESGIPDRFSGSGSTTDFTLTI SSVQPEDAAVYYCQQA YSAPTFGSGTRLEIK	219
4C11	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLSLSCVASGFTFSLYYMNWVRQ APGKGLEWLSVIDTHSIAYYADSVKGRFTISRDNVKNTLY LQLNNLKPEDTALYYCVLGR TALVRWGQGTQVTVSS	220
	VL	DIVMTQSPSSVTASAGERVTINCRSSQSVLYSSNQKNYLN WYQQRRLGQSPRLLIYWASARESGVPDRFSGSGSTTNFTLT ISSFQPEDAAVYYCQQSYKPPYGFSGGTRLEIK	221
7A12	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLSLSCVASGFTFSLYYMNWVRQ APGKGLEWLSVIDTHSIAYYADSVKGRFTISRDNVKNTLY LQLNNLKPEDTALYYCVLGR TALVRWGQGTQVTVSS	222
	VL	EIVLTQSPSSVTASIGEKVTINCESSQSVLYNQKNYLNWY QQRPGQSPRLLIYWASTRQSGVPDRFSGSGSGSTTDFTLTI SSFQPEDVAVYYCQQA YNAPLTFGPGTKVELK	223
7G12	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLSLSCVASGFTFSLYYMNWVRQ APGKGLEWLSVIDTHSIAYYADSVKGRFTISRDNVKNTLY LQLNNLKPEDTALYYCVLGR TALVRWGQGTQVTVSS	224
	VL	EIVLTQSPNSVTASVGEKVTINCKSSQSRVQLGSNQKSYLN WYQQRPGQSPRLLIYASTQQSGIPDRFSGSGSATDFTLTI NSVQPEDAAVYYCQQGYSAPFTFGQGTKVELK	225
7B8	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLSLSCVASGFTFSLYYMNWVRQ APGKGLEWLSVIDTHSIAYYADSVKGRFTISRDNVKNTLY LQLNNLKPEDTALYYCVLGR TALVRWGQGTQVTVSS	226
	VL	EIVLTQSPSSVTASAGEKVTINCKSSQSVLYNQKNYLAWY QQRPGQSPRLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSTTDFTLTISS FQPEDVAVYYCQQGYSVPYTFGSGTRLEIK	227
3B2g1m1	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDYGMWVRQ APGKGLEWVSAIPWSSGSTYYKESVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRSGRIAFGALDAWGQGT LTVSS	228

Название МАТ/Fab	Домен	Последовательность	SEQ ID NO:
	VL	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQ TPGQAPRTLIYSTDSRHSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQ ADDESDYYCGLYMYSGSKNYVFGGGTKLTVL	229
3B2g1m2	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQ APGKGLEWVSAIPGSGGSTYYKESVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGTLV TVSS	230
	VL	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQ TPGQAPRTLIYSTDSRHSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQ ADDESDYYCGLYMYSGSKNYVFGGGTKLTVL	231
3B2g1m4	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQ APGKGLEWVSAIPWQGGSTYYKESVKGRFTISRDNKNTL LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGTLV TVSS	232
	VL	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQ TPGQAPRTLIYSTDSRHSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQ ADDESDYYCGLYMYSGSKNYVFGGGTKLTVL	233
3B2g2m1	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQ APGKGLEWVSAIPWQGGSTYYKESVKGRFTISRDNKNTL LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGTLV TVSS	234
	VL	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQ TPGQAPRTLIYSTDSRHSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQ ADDESDYYCGLYSYSGSKNYVFGGGTKLTVL	235
3B2g2m2	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQ APGKGLEWVSAIPGSGGSTYYKESVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGTLV TVSS	236
	VL	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQ TPGQAPRTLIYSTDSRHSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQ ADDESDYYCGLYSYSGSKNYVFGGGTKLTVL	237
3B2g2m4	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQ APGKGLEWVSAIPWQGGSTYYKESVKGRFTISRDNKNTL LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRSGRIFGALDAWGQGTLV TVSS	238
	VL	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVTSSNYPDWYQQ TPGQAPRTLIYSTDSRHSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQ ADDESDYYCGLYSYSGSKNYVFGGGTKLTVL	239

В варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK, раскрытая в настоящем документе, включает:

вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 97, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 98; (ii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична любому из SEQ ID NO: 99 и 252-259, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей

вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 229; (xviii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 230, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 231; (xix) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 232, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 233; (xx) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 235; (xxi) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 236, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 237; (xxii) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 238, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 239.

В предпочтительном варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK (или антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент), раскрытая в настоящем документе, включает:

вариабельный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В предпочтительном варианте осуществления молекула на основе антитела к MuSK, раскрытая в настоящем документе, включает:

вариабельный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 235.

В предпочтительном варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность,

которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и варибельный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где варибельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где варибельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В более предпочтительном варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает варибельный домен тяжелой цепи и варибельный домен легкой цепи, где варибельный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и варибельный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где варибельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где варибельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает по меньшей мере 80% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 266 или 267, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления CDR-H2 антитела включает пролин (P) в положении 3, триптофан (W) в положении 4 и серин (S) или аспарагин (N) в положении 5.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, где переменный домен тяжелой цепи

включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления CDR-H2 антитела включает пролин (P) в положении 3, триптофан (W) в положении 4 и серин (S) или аспарагин (N) в положении 5.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, где переменный домен тяжелой цепи включает SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO:

153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления CDR-H2 антитела включает пролин (P) в положении 3, триптофан (W) в положении 4 и серин (S) или аспарагин (N) в положении 5.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, где переменный домен тяжелой цепи включает SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает

константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи,

где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает по меньшей мере 80% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 266 или 267, где: а) в полноразмерную тяжелую цепь были введены одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU): замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутациями являются L234A или L235A, более предпочтительно мутациями являются L234A и L235A, и

где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195

(3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи,

где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, где замена(ы) L234A и/или L235A пронумерованы согласно системе нумерации EU, введена в указанную Fc-область, и

где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления молекула на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой

цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа, включающая SEQ ID NO: 266 или 267, где замены L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU, введены в указанную Fc-область, и

где переменный домен тяжелой цепи включает SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления антитела против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 268 и

б) полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 269, и

с) где в полноразмерную тяжелую цепь были введены одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU): замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена

A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутациями являются L234A или L235A, более предпочтительно мутациями являются L234A и L235A.

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент включает:

- a) полноразмерную тяжелую цепь, включающая SEQ ID NO: 268 и
- b) полноразмерную легкую цепь, включающая SEQ ID NO: 269, и
- c) где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, включает:

- a) полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 270 и
- b) полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 271, и

c) где в полноразмерную тяжелую цепь были введены одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU): замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутациями являются L234A или L235A, более предпочтительно мутациями являются L234A и L235A.

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент включает:

- a) полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 270 и
- b) полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 271, и
- c) где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

Полинуклеотиды

Другой аспект настоящего изобретения направлен на выделенные полинуклеотиды, кодирующие молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе. В одном варианте осуществления полинуклеотид, кодирующий антитело к MuSK настоящего изобретения, включает нуклеотидную последовательность, кодирующую любую одну, любые две, любые три, любые четыре, любые пять или любые шесть из CDR-областей, описанных выше, включая CDR-области тяжелой цепи SEQ ID NO: 1-48, 135-140, 147-158, 240-251 и CDR-области легкой цепи SEQ ID NO: 49-96, 141-146 и 159-195. Таким образом, в изобретении предложен полинуклеотид для применения при лечении нейромышечного заболевания у субъекта-человека, где полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент или домен VH, VL или CDR-области.

В варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VH, где домен VH включает: (i) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 17 и CDR-H3 SEQ ID NO: 33; (ii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 34; (iii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 3, CDR-H2 SEQ ID NO: 19 и CDR-H3 SEQ ID NO: 35; (iv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 4, CDR-H2 SEQ ID NO: 20 и CDR-H3 SEQ ID NO: 36; (v) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 5, CDR-H2 SEQ ID NO: 21 и CDR-H3 SEQ ID NO: 37; (vi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 6, CDR-H2 SEQ ID NO: 22 и CDR-H3 SEQ ID NO: 38; (vii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 7, CDR-H2 SEQ ID NO: 23 и CDR-H3 SEQ ID NO: 39; (viii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 8, CDR-H2 SEQ ID NO: 24 и CDR-H3 SEQ ID NO: 40; (ix) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 9, CDR-H2 SEQ ID NO: 25 и CDR-H3 SEQ ID NO: 41; (x) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 10, CDR-H2 SEQ ID NO: 26 и CDR-H3 SEQ ID NO: 42; (xi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 11, CDR-H2 SEQ ID NO: 27 и CDR-H3 SEQ ID NO: 43; (xii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 12, CDR-H2 SEQ ID NO: 28 и CDR-H3 SEQ ID NO: 44; (xiii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 13, CDR-H2 SEQ ID NO: 29 и CDR-H3 SEQ ID NO: 45; (xiv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 14, CDR-H2 SEQ ID NO: 30 и CDR-H3 SEQ ID NO: 46; (xv) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 15, CDR-H2 SEQ ID NO: 31 и CDR-H3 SEQ ID

NO: 47; (xvi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 16, CDR-H2 SEQ ID NO: 32 и CDR-H3 SEQ ID NO: 48; (xvii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 139; и (xviii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 136, CDR-H2 SEQ ID NO: 138 и CDR-H3 SEQ ID NO: 140.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VH, где домен VH включает: (ii.a) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 240 (X2m1); (ii.b) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 241 (X2m2); (ii.c) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 242 (X2m3); (ii.d) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 243 (X2m4); (ii.e) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 244 (X2m5); (ii.f) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 245 (X2m6); (ii.g) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 246 (X2m7); (ii.h) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 2, CDR-H2 SEQ ID NO: 18 и CDR-H3 SEQ ID NO: 247 (X2m8).

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VH, где домен VH включает: (xvii.a) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 248 (X17m1); (xvii.b) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 249 (X17m2); (xvii.c) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 250 (X17m3); (xvii.d) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 135, CDR-H2 SEQ ID NO: 137 и CDR-H3 SEQ ID NO: 251 (X17m6).

В варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VH, где домен VH включает: (xix) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156; (xx) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 148, CDR-H2 SEQ ID NO: 151 и CDR-H3 SEQ ID NO: 157; (xxi) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 149, CDR-H2 SEQ ID NO: 152 и CDR-H3 SEQ ID NO: 158.

В варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VH, где домен VH включает: (xxii) переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 153 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156; (xxiii) переменный домен тяжелой цепи,

включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 154 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156; (xxiv) вариабельный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 155 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156.

В варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VL, где домен VL включает (i) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 49, CDR-L2 SEQ ID NO: 65 и CDR-L3 SEQ ID NO: 81; (ii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 50, CDR-L2 SEQ ID NO: 66 и CDR-L3 SEQ ID NO: 82; (iii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 51, CDR-L2 SEQ ID NO: 67 и CDR-L3 SEQ ID NO: 83; (iv) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 52, CDR-L2 SEQ ID NO: 68 и CDR-L3 SEQ ID NO: 84; (v) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 53, CDR-L2 SEQ ID NO: 69 и CDR-L3 SEQ ID NO: 85; (vi) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 54, CDR-L2 SEQ ID NO: 70 и CDR-L3 SEQ ID NO: 86; (vii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 55, CDR-L2 ID NO: 71 и CDR-L3 SEQ ID NO: 87; (viii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 56, CDR-L2 SEQ ID NO: 72 и CDR-L3 SEQ ID NO: 88; (ix) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 57, CDR-L2 SEQ ID NO: 73 и CDR-L3 SEQ ID NO: 89; (x) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 58, CDR-L2 SEQ ID NO: 74 и CDR-L3 SEQ ID NO: 90; (xi) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 59, CDR-L2 SEQ ID NO: 75 и CDR-L3 SEQ ID NO: 91; (xii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 60, CDR-L2 SEQ ID NO: 76 и CDR-L3 SEQ ID NO: 92; (xiii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 61, CDR-L2 SEQ ID NO: 77 и CDR-L3 SEQ ID NO: 93; (xiv) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 62, CDR-L2 SEQ ID NO: 78 и CDR-L3 SEQ ID NO: 94; (xv) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 63, CDR-L2 SEQ ID NO: 79 и CDR-L3 SEQ ID NO: 95; (xvi) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 64, CDR-L2 SEQ ID NO: 80 и CDR-L3 SEQ ID NO: 96; (xvii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 141, CDR-L2 SEQ ID NO: 143 и CDR-L3 SEQ ID NO: 145; и (xviii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 142, CDR-L2 SEQ ID NO: 144 и CDR-L3 SEQ ID NO: 146.

В варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VL, где домен VL включает: (xix) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 170 и CDR-L3 SEQ ID NO: 180; (xx) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 и CDR-L3 SEQ ID NO: 181; (xxi) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 160, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 182; (xxii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183; (xxiii)

вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 171 и CDR-L3 SEQ ID NO: 184; (xxiv) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 173 и CDR-L3 SEQ ID NO: 185; (xxv) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 173 и CDR-L3 SEQ ID NO: 186; (xxvi) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 161, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 187; (xxvii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 162, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 188; (xxviii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 163, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 188; (xxix) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 164, CDR-L2 SEQ ID NO: 174 и CDR-L3 SEQ ID NO: 189; (xxx) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 165, CDR-L2 SEQ ID NO: 175 и CDR-L3 SEQ ID NO: 190; (xxxi) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 166, CDR-L2 SEQ ID NO: 176 и CDR-L3 SEQ ID NO: 191; (xxxii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 167, CDR-L2 SEQ ID NO: 177 и CDR-L3 SEQ ID NO: 192; (xxxiii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 168, CDR-L2 SEQ ID NO: 178 и CDR-L3 SEQ ID NO: 193; (xxxiiii) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 169, CDR-L2 SEQ ID NO: 179 и CDR-L3 SEQ ID NO: 194.

В варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VL, где домен VL включает: (xxxiv) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183; (xxxv) вариабельный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 195.

В варианте осуществления выделенный полинуклеотид, кодирующий молекулу на основе антитела к MuSK, кодирует любую из последовательностей домена VH и/или VL, представленных в Таблице 3 ниже. Молекулы нуклеиновых кислот, описанные в настоящем документе, включают выделенные полинуклеотиды, части векторов экспрессии или части линейных последовательностей ДНК, включая линейные последовательности ДНК, используемые для *in vitro* транскрипции/трансляции, и векторы, совместимые с экспрессией в прокариотах, эукариотах или нитчатом фаге, секретацией и/или экспонированием антител или их связывающих фрагментов, описанных в настоящем документе.

В предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую VH, которая включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234. В другом предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую VL, которая включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID

NO: 235

В предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), где указанная молекула включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает или состоит из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 264. В еще более предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает или состоит из SEQ ID NO:264.

В другом более предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает или состоит из нуклеотидной последовательности, которая по меньшей мере на 80% 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 265. В еще более предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает или состоит из SEQ ID NO:265.

В более предпочтительном варианте осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи кодируется нуклеотидной последовательностью, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 264, и вариабельный домен легкой цепи кодируется нуклеотидной последовательностью, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 265. В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления полинуклеотид включает:

- а) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:276, кодирующей полноразмерную тяжелую цепь, и

б) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:278, кодирующей полноразмерную легкую цепь.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления полинуклеотид включает:

а) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:277, кодирующей вариабельный домен тяжелой цепи, и

б) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:279, кодирующей вариабельный домен легкой цепи.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления полинуклеотид включает:

а) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:276, кодирующей полноразмерную тяжелую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность, включает нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 277, кодирующей вариабельный домен тяжелой цепи, и

б) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:278, кодирующей полноразмерную легкую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность включает нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:279, кодирующей вариабельный домен легкой цепи.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления полинуклеотид включает:

а) нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:276 и

б) нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:278.

Полинуклеотиды согласно изобретению могут быть получены путем химического синтеза, такого как твердофазный синтез полинуклеотидов на автоматическом синтезаторе полинуклеотидов и собраны в полные одноцепочечные или двухцепочечные молекулы. Также полинуклеотиды могут быть получены другими методами, такими как ПЦР, с последующим обычным клонированием. Технологии производства или получения полинуклеотидов с определенной последовательностью известны в уровне техники.

Полинуклеотиды могут включать по меньшей мере одну некодирующую последовательность, такую как последовательность промотора или энхансера, интрон, сигнал полиаденилирования, цис-последовательность, способствующую связыванию RepA, и т.п. Полинуклеотидные последовательности также могут включать дополнительные последовательности, кодирующие, например, последовательность

линкера, маркера или последовательность метки, такие как гистидиновая метка или НА-метка, для облегчения очистки или обнаружения белка, сигнальную последовательность, белковый партнер по слиянию, такой как RepA, Fc-фрагмент или белок оболочки бактериофага, такой как pIX или pIII.

Вектор

В другом аспекте предложен вектор (предпочтительно вектор экспрессии) для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, включающий полинуклеотид, кодирующий молекулу на основе антитела к MuSK (или антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент), как описано в настоящем документе.

Такие векторы включают, без ограничения, плазмидные векторы, вирусные векторы, в том числе, вектор на основе осповакцины, лентивирусный вектор, аденовирусный вектор, вектор на основе аденоассоциированного вируса, векторы для бакуловирусной экспрессии, векторы на основе транспозонов или любой другой вектор, подходящий для введения полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, в определенный организм или генетический фон каким-либо образом, для облегчения экспрессии кодируемого полипептида антитела. В одном варианте осуществления полинуклеотид, кодирующий переменный домен тяжелой цепи, один или вместе с полинуклеотидом, кодирующим переменный домен легкой цепи, как описано в настоящем документе, комбинируют с последовательностями промотора, сегмента инициации трансляции (например, последовательности связывания рибосомы и старт-кодона), 3'-нетранслируемой области, сигнала полиаденилирования, стоп-кодона и терминатора транскрипции, с получением одной или больше конструкций вектора экспрессии.

В одном варианте осуществления вектор представляет собой вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV). В уровне техники известен ряд терапевтических AAV векторов, подходящих для доставки полинуклеотидов, кодирующих антитела, описанные в настоящем документе, в центральную нервную систему. См., например, публикацию Deverman et al., "Gene Therapy for Neurological Disorders: Progress and Prospects", *Nature Rev.* 17:641-659 (2018), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте. Подходящие AAV векторы включают серотипы AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 или AAV11 в своей нативной форме или модифицированные для повышения тропизма. Векторы на основе AAV, которые, как известно, обладают тропизмом к ЦНС, и которые особенно подходят для терапевтической экспрессии антител к MuSK, описанных в настоящем документе, включают AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV8 и AAV9 в своей нативной форме или модифицированные для повышения тропизма. В одном варианте осуществления AAV вектор представляет собой вектор AAV2. В другом варианте осуществления AAV вектор представляет собой вектор AAV5 (Vitale et al., "Anti-tau Conformational scFv MC1 Antibody Efficiently Reduces Pathological Tau Species in Adult JNPL3 Mice", *Acta Neuropathol. Commun.* 6:82 (2018), которая настоящим полностью

включена посредством отсылки). В другом варианте осуществления AAV вектор представляет собой вектор AAV9 (Haiyan et al., "Targeting Root Cause by Systemic scAAV9-hIDS Gene Delivery: Functional Correction and Reversal of Severe MPSII in Mice", *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 10:327-340 (2018), которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). В другом варианте AAV вектор представляет собой вектор AAVrh10 (Liu et al., "Vectored Intracerebral Immunizations with the Anti-Tau Monoclonal Antibody PHF1 Markedly Reduces Tau Pathology in Mutant Transgenic Mice", *J. Neurosci.* 36(49): 12425-35 (2016), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте).

В другом варианте осуществления вектор на основе AAV представляет собой гибридный вектор, включающий геном одного серотипа, например, AAV2, и капсидный белок другого серотипа, например, AAV1 или AAV3-9, для контроля тропизма. См., например, публикацию Broekman et al., "Adeno-associated Virus Vectors Serotyped with AAV8 Capsid are More Efficient than AAV-1 or -2 Serotypes for Widespread Gene Delivery to the Neonatal Mouse Brain", *Neuroscience* 138:501-510 (2006), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте. В одном варианте AAV вектор представляет собой гибридный вектор AAV2/8 (Ising et al., "AAV-mediated Expression of Anti-Tau ScFv Decreases Tau Accumulation in a Mouse Model of Tauopathy", *J. Exp. Med.* 214(5):1227 (2017), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте). В другом варианте осуществления AAV вектор представляет собой гибридный вектор AAV2/9 (Simon et al., "A Rapid Gene Delivery-Based Mouse Model for Early-Stage Alzheimer Disease-Type Tauopathy", *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 72(11): 1062-71 (2013), которая полностью включена в настоящий документ посредством отсылки).

В другом варианте осуществления AAV вектор является вектором, который был сконструирован или выбран из-за его усиленной трансдукции в ЦНС после внутривенного введения, например, AAV-DJ (Grimm et al., *J. Virol.* 82:5887-5911 (2008), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте); повышенной трансдукции нервных стволовых клеток и клеток-предшественников, например, SCH9 и AAV4.18 (Murlidharan et al., *J. Virol.* 89: 3976-3987 (2015) and Ojala et al., *Mol. Ther.* 26:304-319 (2018), которая полностью включена в настоящий документ посредством отсылки); усиленной ретроградной трансдукции, например, rAAV2-retro (Muller et al., *Nat. Biotechnol.* 21:1040-1046 (2003), которая полностью включена в настоящий документ посредством отсылки); селективной трансдукции в эндотелиальные клетки головного мозга, например, AAV-BRI (Korbelin et al., *EMBO Mol. Med.* 8: 609-625 (2016), которая полностью включена в настоящий документ посредством отсылки); или усиленной трансдукции ЦНС взрослых после внутривенного введения, например, AAV-PHP.B и AAVPHP.eB (Deverman et al., *Nat. Biotechnol.* 34: 204-209 (2016) и Chan et al., *Nat. Neurosci.* 20: 1172-1179 (2017), которые полностью включены в настоящий документ посредством отсылки).

В соответствии с этим вариантом осуществления конструкция вектора экспрессии, кодирующая молекулу на основе антитела к MuSK, включает полинуклеотид, кодирующий полипептид тяжелой цепи, его функциональный фрагмент, его вариант или их комбинации. Экспрессионная конструкция в альтернативе может включать последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид легкой цепи, его функциональный фрагмент, его вариант или их комбинации. В одном из вариантов осуществления конструкция вектора экспрессии включает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид тяжелой цепи, его функциональный фрагмент или его вариант, и полипептид легкой цепи, его функциональный фрагмент или его вариант.

В одном из вариантов осуществления экспрессионная конструкция дополнительно включает промоторную последовательность, подходящую для направления экспрессии молекулы на основе антитела к MuSK. Подходящие промоторные последовательности включают, помимо прочего, промотор фактора элонгации 1-альфа (EF1a), промотор фосфоглицераткиназы-1 (PGK), промотор предраннего гена цитомегаловируса (CMV), химерный печеночноспецифический промотор (LSP), энхансер цитомегаловируса/промотор куриного бета-актина (CAG), тетрациклин-чувствительный промотор (TRE), промотор транстиретина (TTR), промотор вируса обезьян 40 (SV40) и промотор СК6. Другие промоторы, подходящие для направления экспрессией генов в клетках млекопитающих, которые известны в уровне техники, также подходят для включения в экспрессионные конструкции, раскрытые в настоящем документе.

В одном варианте осуществления экспрессионная конструкция (или вектор экспрессии) дополнительно кодирует линкерную последовательность. Линкерная последовательность может кодировать аминокислотную последовательность, которая пространственно разъединяет и/или соединяет один или больше компонентов экспрессионной конструкции (компоненты тяжелой цепи и легкой цепи кодируемого антитела).

В предпочтительном варианте осуществления вектор экспрессии включает полинуклеотид, кодирующий молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), и которая включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,
- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153

или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющий 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления вектор экспрессии включает нуклеотид, кодирующий молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), и которая включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления вектор экспрессии включает полинуклеотид, кодирующий на молекулу основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK) и включает:

a) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:276, кодирующей полноразмерную тяжелую цепь, и

b) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:278, кодирующей полноразмерную легкую цепь.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления вектор экспрессии включает полинуклеотид, кодирующий молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), и включающий:

a) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:277, кодирующей вариабельный домен тяжелой цепи, и

b) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:279, кодирующей вариабельный домен легкой цепи.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления вектор экспрессии включает полинуклеотид, кодирующий молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), и включающий:

c) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:276, кодирующей полноразмерную тяжелую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность включает нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO: 277, кодирующей вариабельный домен тяжелой цепи, и

d) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:278, кодирующей полноразмерную легкую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность включает нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:279, кодирующей вариабельный домен легкой цепи.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления вектор экспрессии включает полинуклеотид, кодирующий молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), и включающий:

a) нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:276 и

б) нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:278.

Клетка-хозяин

Другим аспектом данного изобретения является клетка-хозяин или бесклеточная система экспрессии для применения при лечении нейромышечного заболевания у субъекта-человека, где клетка содержит вектор экспрессии, кодирующий антитела к MuSK (или их антигенсвязывающий фрагмент), и необязательно продуцирует указанные антитела к MuSK, как описано в настоящем документе.

Молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, необязательно могут быть продуцированы линией клеток, смешанной линией клеток, иммортализованной клеткой или клональной популяцией иммортализованных клеток, также известных в уровне техники (см., например, Ausubel et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, N.Y. (1987-2001); Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Colligan et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997-2001), которые настоящим включены посредством отсылки во всей своей полноте).

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин, выбранная для экспрессии, может происходить из млекопитающего. Подходящие клетки-хозяева млекопитающих включают, без ограничения, клетки COS-1, клетки COS-7, клетки HEK293, клетки ВНК21, клетки CHO, клетки BSC-1, клетки HeG2, клетки SP2/0, клетки HeLa, миеломные клетки млекопитающих, клетки лимфомы млекопитающих или любую производную, иммортализованную или трансформированную клетку. Другие подходящие клетки-хозяева включают, без ограничения, клетки дрожжей, клетки насекомых и клетки растений. В альтернативе клетка-хозяин может быть выбрана из вида или организма, неспособного к гликозилированию полипептидов, например, прокариотической клетки или организма, таких как BL21, BL21 (DE3), BL21-ЗОЛОТО (DE3), XL1-синий, JM109, HMS174, HMS174 (DE3), и любые из природных или рекомбинантных видов *E. coli*, видов *Klebsiella* или штаммов видов *Pseudomonas*.

Молекулы на основе антитела к MuSK, описанные в настоящем документе, могут быть получены любыми различными методами с использованием выделенных полинуклеотидов, векторов и клеток-хозяев, описанных выше. Обычно антитела могут быть получены с помощью методов культивирования клеток, включая получение моноклональных антител стандартными методами или путем трансфекции генов антител, тяжелых цепей и/или легких цепей в подходящие клетки-хозяева бактерий или млекопитающих, чтобы обеспечить продукцию антител, где антитела могут быть рекомбинантными. В одном из вариантов осуществления молекула на основе антитела к MuSK, описанная в настоящем документе, представляет собой моноклональное антитело или его функциональный связывающий фрагмент. Стандартные методы молекулярной биологии используются для получения рекомбинантного вектора экспрессии,

трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения антитела из культуральной среды. Трансфекцию клетки-хозяина можно проводить с использованием различных методов, обычно используемых для введения экзогенной ДНК в прокариотическую или эукариотическую клетку-хозяина, например, путем электропорации, осаждения фосфатом кальция, трансфекции DEAE-декстраном и т.п. Хотя можно экспрессировать антитела, описанные в настоящей заявке, как в прокариотических, так и в эукариотических клетках-хозяевах, экспрессия антител в эукариотических клетках, в частности в клетках млекопитающих, иногда предпочтительна, поскольку такие эукариотические клетки (и, в частности, клетки млекопитающих) с более высокой вероятностью, нежели прокариотические клетки, обеспечивают сборку и секрецию правильно свернутого и иммунологически активного антитела.

Как отмечено выше, типичные клетки-хозяева млекопитающих для экспрессии рекомбинантных антител согласно изобретению включают клетки яичников китайского хомячка (клетки CHO) (включая клетки dhfr-CHO, описанные в публикации Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4216-4220 (1980), которая включена в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте). Другие подходящие клетки-хозяева млекопитающих включают, помимо прочего, клетки миеломы NS0, клетки COS и клетки SP2. Когда рекомбинантные векторы экспрессии, кодирующие гены антител, вводят в клетки-хозяева млекопитающих, антитела продуцируются при культивировании клеток-хозяев в течение периода времени, достаточного для обеспечения экспрессии антитела в клетках-хозяевах или, что более предпочтительно, секреции антитела в среду культивирования, в которой выращивают клетки-хозяева.

Клетки-хозяева также могут использоваться для получения функциональных фрагментов антител, таких как Fab-фрагменты или молекулы scFv. Нужно понимать, что вариации описанной выше процедуры находятся в рамках объема настоящего изобретения. Например, может быть желательно трансфицировать клетку-хозяина ДНК, кодирующей функциональные фрагменты либо легкой цепи, либо тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем документе. Технология рекомбинантных ДНК также может использоваться для удаления части или всей ДНК, кодирующей одну или обе легкие и тяжелые цепи, которая не является необходимой для связывания с представляющими интерес антигенами. Молекулы, экспрессируемые с таких усеченных молекул ДНК, также охватываются антителами, описанными в настоящем документе.

Антитела и связывающие фрагменты антител выделяют и очищают из рекомбинантных клеточных культур известными способами, включая, помимо прочего, очистку с белком А, осаждение сульфатом аммония или этанолом, экстракцию кислотой, анионную или катионообменную хроматографию, хроматографию на фосфоцеллюлозе, хроматографию гидрофобных взаимодействий, аффинную хроматографию, хроматографию на гидроксилатаптите и хроматографию с лектинами. Для очистки также может использоваться высокоэффективная жидкостная хроматография ("ВЭЖХ").

В предпочтительном варианте осуществления клетка-хозяин экспрессирует молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления клетка-хозяин экспрессирует молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления клетка-хозяин экспрессирует молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает:

а) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:276, кодирующей полноразмерную тяжелую цепь, и

б) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:278, кодирующей полноразмерную легкую цепь.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления клетка-хозяин экспрессирует молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает:

а) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:277, кодирующей вариабельный домен тяжелой цепи, и

б) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:279, кодирующей вариабельный домен легкой цепи.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления клетка-хозяин экспрессирует молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает:

а) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:276, кодирующей полноразмерную тяжелую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность включает нуклеотидную последовательность, которая по меньшей

мере на 80% идентична SEQ ID NO: 277, кодирующей вариабельный домен тяжелой цепи, и

б) нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:278, кодирующей полноразмерную легкую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность включает нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична SEQ ID NO:279, кодирующей вариабельный домен легкой цепи.

В варианте осуществления идентичность составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления клетка-хозяин экспрессирует молекулу на основе антитела, которая связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которая включает:

а) нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:276 и

б) нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:278.

Композиции, включающие молекулы на основе антитела к MuSK

Молекулы на основе антитела к MuSK или полинуклеотид, кодирующий молекулы на основе антитела к MuSK, согласно настоящему изобретению можно с преимуществом вводить в качестве композиций.

Таким образом, в другом аспекте предложена композиция для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, где указанная композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии или клетку-хозяина или бесклеточную систему экспрессии, как определено в настоящем документе.

В варианте осуществления указанная композиция является фармацевтической композицией. В варианте осуществления указанная фармацевтическая композиция включает по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательные вещества.

В варианте осуществления такие композиции являются фармацевтическими композициями, включающими активное терапевтическое средство (т.е. антитело к MuSK) и один или больше других различных фармацевтически приемлемых компонентов. См. справочник REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (21st Edition) (2005) (Troy, D.B. et al. (Eds.) Lippincott Williams & Wilkins (Publ.), Baltimore MD), который настоящим включен посредством отсылки во всей полноте. Предпочтительная форма зависит от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. Композиции также могут включать, в зависимости от требуемого состава, фармацевтически приемлемые нетоксичные носители, вспомогательные вещества, разбавители, наполнители, соли, буферы, детергенты (например, неионогенный детергент, такой как Tween-20 или Tween-80), стабилизаторы (например, сахара или небелковые аминокислоты), консерванты, фиксаторы тканей, солюбилизаторы и/или другие материалы, подходящие для включения в фармацевтическую композицию, которые

представляют собой носители, обычно используемые при изготовлении фармацевтических композиций для введения животным или человеку. Разбавитель подбирают таким образом, чтобы он не влиял на биологическую активность комбинации. Примерами таких разбавителей являются дистиллированная вода, фосфатно-солевой буферный раствор, раствор Рингера, раствор декстрозы и раствор Хэнкса. Кроме того, фармацевтическая композиция или состав также может включать другие носители или нетоксичные, нетерапевтические, неиммуногенные стабилизаторы и т.п. Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые могут использоваться в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению, включают воду, физиологический раствор, фосфатно-солевой буфер, этанол, декстрозу, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, кукурузное масло, арахисовое масло, хлопковое масло и кунжутное масло, коллоидные растворы карбоксиметилцеллюлозы, трагакантовую камедь и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат, и/или различные буферы. Другие носители хорошо известны в области фармацевтики.

Фармацевтически приемлемые носители включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для экстенпорального приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Применение таких сред и веществ для фармацевтически активных веществ известно в уровне техники. За исключением случаев, когда какие-либо традиционные среды или вещества несовместимы с активным соединением, предусмотрено их применение в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению.

Композиции также могут включать крупные, медленно метаболизируемые макромолекулы, такие как белки, полисахариды, такие как хитозан, полимолочные кислоты, полигликолевые кислоты и сополимеры (например, функционализированная латексом сефароза, агароза, целлюлоза и т.п.), полимерные аминокислоты, сополимеры аминокислот и липидные агрегаты (например, масляные капли или липосомы). Пригодность в качестве носителей и других компонентов фармацевтических композиций определяют на основе отсутствия значительного негативного воздействия на желаемые биологические свойства активной молекулы на основе антитела согласно настоящему изобретению (например, меньше существенного воздействия (например, относительное ингибирование 10% или меньше, относительное ингибирование 5% или меньше и т.д.) на связывание антигена).

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению также могут включать фармацевтически приемлемые антиоксиданты, например: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновую кислоту, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т.п.; (2) маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилгидроксианизол (ВНА), бутилгидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т.п.; и (3) хелатообразователи, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота

(ЭДТА), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению также могут включать изотонические вещества, такие как сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит, глицерин, или хлорид натрия.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению также могут содержать один или больше адьювантов, подходящих для выбранного пути введения, таких как консерванты, смачивающие вещества, эмульгаторы, диспергирующие вещества, консерванты или буферы, которые могут увеличивать срок хранения или эффективность фармацевтической композиции. Антитела согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены с носителями, которые будут предохранять антитела от быстрого высвобождения, такими как составы с контролируемым высвобождением, включая имплантаты, трансдермальные пластыри и микроинкапсулированные системы доставки. Такие носители могут включать желатин, моностеарат глицерина, дистеарат глицерина, биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевую кислоту, коллаген, полиортоэфиры и полимолочную кислоту, отдельно или с воском, или другие материалы, хорошо известные в уровне техники. Способы приготовления таких составов в целом известны специалистам в данной области. См., например, SUSTAINED AND CONTROLLED RELEASE DRUG DELIVERY SYSTEMS, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

В одном варианте осуществления антитела согласно настоящему изобретению могут быть изготовлены таким образом, чтобы гарантировать правильное распределение *in vivo*. Фармацевтически приемлемые носители для парентерального введения включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для экстемпорального приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Применение таких сред и веществ для фармацевтически активных веществ известно в уровне техники.

Фармацевтические композиции для инъекций обычно должны быть стерильными и стабильными в условиях производства и хранения. Композиция может быть изготовлена в виде раствора, микроэмульсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для создания высокой концентрации лекарственного средства. Носитель может быть водным или неводным растворителем или дисперсионной средой, содержащей, например, воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Нужную текучесть можно поддерживать, например, за счет использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания нужного размера частиц в случае дисперсии и при использовании поверхностно-активных веществ. Во многих случаях будет предпочтительно включать в композицию изотонические вещества, например, сахара, полиспирты, такие как глицерин, маннит, сорбит, или хлорид натрия. Пролонгированное всасывание композиций для инъекций может быть достигнуто при включении в состав вещества, которое задерживает всасывание, например, моностеаратных солей и желатина.

Стерильные растворы для инъекций можно приготавливать путем включения активного соединения в требуемом количестве в подходящий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, например, как указано выше, с последующей стерилизацией микрофильтрацией при необходимости. Обычно дисперсии приготавливают путем включения активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций, примерами способов приготовления являются вакуумная и лиофильная сушка (лиофилизация), которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный требуемый ингредиент из его предварительно простерилизованного фильтрованием раствора.

В случае парентерального введения, средства согласно настоящему изобретению обычно приготавливают в виде инъекционных доз раствора или суспензии вещества в физиологически приемлемом разбавителе с фармацевтическим носителем, который может быть стерильной жидкостью, такой как вода, масло, раствор хлорида натрия, глицерин или этанол. Кроме того, в композициях могут присутствовать вспомогательные вещества, такие как смачивающие или эмульгирующие вещества, поверхностно-активные вещества, рН-буферные вещества и т.п. Другими компонентами фармацевтических композиций являются компоненты нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения. Арахисовое масло, соевое масло и минеральное масло являются примерами подходящих материалов. Как правило, такие гликоли, как пропиленгликоль или полиэтиленгликоль, являются предпочтительными жидкими носителями, в особенности в случае растворов для инъекций. Средства согласно изобретению можно вводить в форме депо-инъекции или препарата для имплантации, которые могут иметь такой состав, чтобы обеспечивать замедленное высвобождение активного ингредиента.

Обычно композиции приготавливают в виде инъекционных препаратов, либо в виде жидких растворов, либо суспензий; также можно приготавливать твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидких растворителях перед инъекцией. Препарат также можно эмульгировать или инкапсулировать в липосомы или микрочастицы, такие как полилактид, полигликолид или сополимер, для усиления адьювантного эффекта (Langer, et al., *Science* 249:1527 (1990); Hanes, et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 28:97-119 (1997), которые полностью включены в настоящий документ посредством отсылки). Дополнительные составы, подходящие для других способов введения, включают составы для перорального, интраназального и ингаляционного введения, суппозитории и трансдермальные пластыри.

В варианте осуществления композиция включает антитело против MuSK (или антигенсвязывающий фрагмент), которое включает переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 153 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления композиция включает антитело против MuSK (или

антигенсвязывающий фрагмент), которое включает переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 153 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 (3B2g1m1).

В варианте осуществления антитела против MuSK (или антигенсвязывающий фрагмент), которое включает переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 154 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 (3B2g1m2).

В варианте осуществления антитела против MuSK (или антигенсвязывающий фрагмент), которое включает переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 154 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 195 (3B2g2m2).

В варианте осуществления антитела против MuSK (или антигенсвязывающий фрагмент), которое включает переменный домен тяжелой цепи, включающий CDR-H1 SEQ ID NO: 147, CDR-H2 SEQ ID NO: 150 и CDR-H3 SEQ ID NO: 156, и переменный домен легкой цепи, включающий CDR-L1 SEQ ID NO: 159, CDR-L2 SEQ ID NO: 172 и CDR-L3 SEQ ID NO: 183 (3B2).

В предпочтительном варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и
- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,
- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и
- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,
- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и
- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В предпочтительном варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает

аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из

SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В предпочтительном варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, где замену(ы) L234A и/или L235A, пронумерованную согласно системе нумерации EU, вводят в указанную Fc-область, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, где в указанную Fc-область введена замена(ы) L234A и/или L235A, пронумерованная согласно системе нумерации EU, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID

NO: 268, и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 269, и

с) Где одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) были введены в полноразмерную тяжелую цепь: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

В варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268, и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и

с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления связывание с эффекторным лигандом снижено по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше не поддается обнаружению по сравнению со связыванием с тем же лигандом антитела, не имеющего аминокислотных замен в его константной Fc-области человеческого IgG.

В варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 270 и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 271, и

с) Где одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) были введены в полноразмерную тяжелую цепь: замена N297A; замена

N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

В варианте осуществления композиция включает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с человеческой мышечно-специфической тирозинпротеинкиназой (MuSK), которое включает:

- a) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 270, и
- b) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 271, и
- c) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованный согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления связывание с эффекторным лигандом снижено по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше не поддается обнаружению по сравнению со связыванием с тем же лигандом антитела, не имеющего аминокислотных замен в его константной Fc-области человеческого IgG.

Молекулы на основе антитела к MuSK согласно настоящему изобретению можно вводить парентеральным, наружным, пероральным или интраназальным путем для терапевтического лечения. Внутримышечная инъекция (например, в мышцы руки или ноги) и внутривенная инфузия являются предпочтительными способами введения молекул согласно настоящему изобретению. В некоторых способах такие молекулы вводят в качестве композиции или устройства с пролонгированным высвобождением, такого как устройство MedipadTM (Elan Pharm. Technologies, Dublin, Ireland). В некоторых способах антитела, раскрытые в настоящем документе, вводят непосредственно в конкретную ткань, например, путем внутривенной инъекции.

В одном варианте осуществления фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению вводят парентерально. Фразы "парентеральное введение" и "вводимый парентерально", используемые в настоящем документе, обозначают способы введения, отличающиеся от энтерального введения и наружного применения, обычно выполняемые путем инъекции, и включают эпидермальную, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, интракапсулярную, внутривенную, внутриглазничную, внутрисердечную, внутрикожную, внутривенную, внутрисухожильную, транстрахеальную, подкожную,

субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, внутрочерепную, внутригрудную, эпидуральную и внутригрудинную, подкожную инъекцию и инфузию. В одном варианте осуществления такую фармацевтическую композицию вводят путем внутривенной или подкожной инъекции или инфузии.

В одном варианте антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент (или полинуклеотид, вектор экспрессии, клетку-хозяина или композицию) для применения согласно изобретению вводят в комбинации с антихолинергическим соединением. Антихолинергическое соединение представляет собой соединение, которое способно ингибировать действие нейромедиатора ацетилхолина в синапсах или нейроэффektorных соединениях, таких как нейромышечные синапсы. Предпочтительно антихолинергическое соединение представляет собой соединение, которое способно ослаблять активность мускаринового ацетилхолинового рецептора.

Антихолинергическое соединение также может быть включено в состав композиции как антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент. Тип композиций, раскрытых в настоящем документе для антитела против MuSK или антигенсвязывающего фрагмента, также может использоваться для композиции, включающей антихолинергическое соединение. Два соединения могут присутствовать в одной композиции. В альтернативе они могут быть включены в состав отдельных композиций.

Применение соединения приводит к активации и индукции механизма, который способствует стабильности и/или восстановлению НМС (нейромышечного синапса), что привлекательно для лечения любого нейромышечного заболевания, особенно в случае поражения такого НМС. В предпочтительном варианте применение двух разных соединений, каждое из которых активирует и индуцирует механизм, который способствует стабильности и/или восстановлению НМС, является еще более привлекательным, поскольку продемонстрировано, что такое комбинированное лечение является синергическим. Таким образом, указанная комбинация дает большое преимущество при лечении нейромышечного заболевания, в особенности нейромышечного заболевания или нарушения с поражением НМС, такого как БАС.

В одном из вариантов осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин или композиция для применения согласно любому из предыдущих пунктов, где нейромышечное нарушение характеризуется нарушением нейромышечной передачи и/или денервацией НМС.

Нарушение нейромышечной передачи может характеризоваться по меньшей мере одним из следующего:

- a. повышенная возбудимость мускариновых рецепторов,
- b. гибель мотонейронов,
- c. денервация НМС и

d. нарушение синаптической передачи

В одном из вариантов осуществления нарушение нейромышечной передачи или нарушение синаптической передачи может характеризоваться дефицитом сигнализации MuSK, дефицитом димеризации MuSK, дефицитом фосфорилирования MuSK, дефицитом сигнализации MuSK и/или дефицитом кластеризации ацетилхолиновых рецепторов.

В одном из вариантов осуществления нарушение нейромышечной передачи или нарушение синаптической передачи может характеризоваться нарушением двигательной активности, снижением силы захвата, нарушением сократительных свойств мышцы в НМС, низкой устойчивостью мышцы к утомлению, снижением мышечной массы.

В одном из вариантов нейромышечное нарушение исследуют, оценивают или диагностируют посредством электрофизиологического исследования; фармакодинамического исследования; по уровню нейрофиламентов (например, легких цепей нейрофиламентов (NFL)) в сыворотке крови, плазме и/или спинномозговой жидкости (СМЖ); или биопсии НМС.

Нейромышечное заболевание может быть выбрано из группы, состоящей из: бокового амиотрофического склероза (БАС), спинальной мышечной атрофии (СМА), миастении, врожденной миастении, миастенического синдрома Ламберта-Итона (LEMS), болезни Лайма, полиомиелита, постполиомиелитного синдрома, интоксикации тяжелыми металлами, синдрома Кеннеди, болезни Тея-Сакса взрослых, наследственной спастической параплегии, мультифокальной нейропатии, шейного спондилеза, экстрамедуллярной опухоли с компрессионной радикулопатией и миелопатией, миозита с тельцами включения, прогрессирующего бульбарного паралича, прогрессирующей мышечной атрофии, синдрома мотонейронов и тиреотоксической миопатии. Предпочтительным нейромышечным нарушением является БАС.

В одном из вариантов осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, как определено в настоящем документе, могут вводить субъекту без симптомов БАС. Это означает, что такое антитело или антигенсвязывающий фрагмент можно вводить до возникновения БАС у указанного субъекта. То же относится и к другим нейромышечным нарушениям.

В этом контексте субъект без симптомов БАС может быть субъектом, у которого диагностирована предрасположенность к развитию нейромышечного нарушения или заболевания, такого как БАС. Идентификация лица (или субъекта) с нейромышечным нарушением может означать, что идентификацию проводят с использованием диагностического способа. Такой субъект может быть субъектом с симптомами, диагностированными в начале заболевания или после начала заболевания, или предрасположенным к развитию нейромышечного нарушения или заболевания (т.е. бессимптомным субъектом с диагнозом до начала заболевания, что является синонимом периода до начала заболевания).

Нейромышечное нарушение может быть вызвано генетическим дефектом. Генетический дефект полностью или частично вызван изменением последовательности

геномной ДНК по сравнению с последовательностью геномной ДНК соответствующего лица или субъекта, не страдающего указанным генетическим дефектом. Генетический дефект может быть вызван мутацией одного гена (моногенное нарушение), мутацией нескольких генов (многофакторное наследственное заболевание), комбинацией мутаций генов и факторов окружающей среды или повреждением хромосом (изменение количества или структуры целых хромосом, структур, которые несут гены). Типы генетических мутаций включают замены, делеции и вставки оснований.

В одном из вариантов осуществления у субъекта-человека идентифицируют нейромышечное заболевание (или предрасположенность к его развитию), вызванное генетическим дефектом. В одном варианте нейромышечное заболевание представляет собой БАС, а генетический дефект присутствует в гене SOD1. Лица или субъекты, предрасположенные к развитию БАС, включают лиц, имеющих один или несколько факторов риска развития БАС, включая старение, личный или семейный анамнез или генетическую предрасположенность к одному или нескольким заболеваниям, связанным с СОД-1. Одной из основных генетических причин или предрасположенности к БАС являются мутации в гене SOD1 человека. Соответственно, идентификация субъекта, страдающего БАС, восприимчивого или предрасположенного к развитию БАС, может быть осуществлена путем генетического исследования гена SOD1 у субъекта с использованием анализов, известных в уровне техники, таких как, например, генетическое секвенирование. На данный момент в SOD1 человека известно по меньшей мере 180 мутаций, связанных с БАС. В одном из вариантов осуществления мутация SOD1 представляет собой одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из: A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, VI 18L, D124G, LI 14F, D90A, G12RG147R и G37R. В одном варианте мутация гена SOD1 представляет собой G37R.

Таким образом, бессимптомное лицо или субъект могут быть идентифицированы (до начала заболевания), когда у указанного субъекта имеется одна мутация SOD1, выбранная из группы, состоящей из: A4V, H46R, G93S, A4T, G141X, D133A, V148G, N139K, G85R, G93A, V14G, C6S, I113T, D49K, G37R, A89V, E100G, D90A, T137A, E100K, G41A, G41D, G41S, G13R, G72S, L8V, F20C, Q22L, H48R, T54R, S591, V87A, T88deltaTAD, A89T, V97M, S105deltaSL, VI 18L, D124G, LI 14F, D90A, G12RG147R и G37R.

Анализ предрасположенности субъекта к заболеванию БАС (т.е. бессимптомного субъекта, предрасположенного к развитию БАС) может быть выполнен путем анализа семейного анамнеза субъекта в отношении БАС. Анализ семейного анамнеза может включать в себя генеалогическую схему по трем поколениям с задокументированными случаями БАС, анализ медицинских записей и патологоанатомических исследований членов семьи, а также выявление аутосомно-доминантного профиля мутации SOD1.

Идентификация лица или субъекта, не имеющего симптомов БАС (но предрасположенного к развитию такого заболевания), также может быть выполнена с помощью анализа маркера БАС. Например, специфическим маркером БАС могут быть циркулирующие микроРНК, кольцевые РНК (кРНК) или информационные РНК (мРНК), агрегаты TDP-42, 8-оксодезоксигуанозин (8-oxodG), 15-F2t-изопропан (IsoP), ФНО- α плазмы, IL-10, TRAIL, IL-1b плазмы, CSF TRAIL, провоспалительные Т-хелперные (Th)17 клетки, Th1 клетки, противовоспалительные Th2, регуляторные Т-клетки (Treg), провоспалительный IL-1b, IL-6, IFN-g, противовоспалительный IL-10, холестерин, холестерин ЛПНП, апополипротеин В, холестерин ЛПВП, апополипротеин АI, креатинин плазмы (PCr), ферритин плазмы, трансферрин, гепсидин, хитотриозидаза-1 (CHIT1), хитиназа-3-подобный белок 2 (CH3L2/YKL39), общий тау (tTau), фосфорилированный тау (pTau), амилоид b (Ab), новый INHAT репрессор (NIR), С-концевая гидролаза-L1 убиквитина (UCHL1), ассоциированный с микротрубочками белок 2, актин-кэпирующий белок, гельсолин-подобный белок (CAPG) или гликопротеин нематастатической меланомы В (GPNMB). Субъекта-человека можно считать предрасположенным к заболеванию БАС, если хотя бы одно из таких измерений маркеров отклоняется по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% от нормы для субъекта-человека того же возраста, но не имеющего БАС. Анализ предрасположенности субъекта к заболеванию БАС также может быть проводить с помощью визуализации. Например, такой анализ изображений может представлять собой исследование скелетных мышц с помощью МРТ, функциональные оценки мышц по изображению или прогнозируемое по результатам ультразвукового исследования языка бульбарное прогрессирование с или без МРТ.

В варианте осуществления антихолинергическое соединение вводят отдельно, последовательно или одновременно с антителом против MuSK или его антигенсвязывающим фрагментом, полинуклеотидом, вектором экспрессии, клеткой-хозяином, бесклеточной системой экспрессии или композицией.

В варианте осуществления антихолинергическое соединение вводят в начале заболевания или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 дня или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 недель; или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев после начала заболевания. В варианте осуществления антихолинергическое соединение вводят в начале заболевания или в течение одной недели после начала заболевания. Неожиданно заслуживающие внимания результаты были получены, когда антихолинергическое соединение вводили в начале заболевания или как можно скорее после начала заболевания. Специалисту в данной области будет понятно, что антихолинергическое соединение предпочтительно не применяют для уменьшения симптомов, связанных с нейромышечным нарушением (таким как БАС). В варианте осуществления антихолинергическое соединение не используется для уменьшения позывов к мочеиспусканию. В одном из вариантов осуществления антихолинергическое соединение не применяют для уменьшения или ослабления позывов к мочеиспусканию.

при нейромышечном заболевании, таком как БАС.

В одном варианте антихолинергическое соединение вводят в начале заболевания или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 дня; в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 недель; или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев после начала заболевания, но до постановки диагноза заболевания. В предпочтительных вариантах осуществления введение производят между постановкой диагноза и в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 дня; в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 недель; или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев до постановки диагноза.

В варианте осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетку-хозяина или композицию вводят до начала заболевания или в начале заболевания. Период до начала заболевания может означать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 день до начала заболевания или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 недель до начала заболевания или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 месяцев до начала заболевания. В этом контексте субъект-человек в период до начала заболевания может означать, что субъект-человек не имеет симптомов указанного нейромышечного нарушения, такого как БАС.

Таким образом, в другом аспекте данного изобретения предложено антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент (полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция) для применения при лечении БАС у субъекта-человека, где указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят в период до начала заболевания, предпочтительно в течение 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев до начала заболевания. В данном контексте субъект-человек в период до начала заболевания может означать, что субъект-человек не имеет симптомов БАС. В варианте осуществления у субъекта диагностируют предрасположенность к развитию нейромышечного нарушения или заболевания, такого как БАС.

В одном из вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает последовательность Frizzled (Fz)-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 129.

В варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, включающую по меньшей мере 80% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 266 или 267.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антитело-агонист к MuSK и/или имеет сниженную или устраненную эффекторную функцию.

В варианте осуществления сниженная или устраненная эффекторная функция получена в результате введения одной или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) в константную Fc-область человеческого IgG SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена

L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; или замена P396L.

В предпочтительном варианте осуществления замену L234A или L235A вводят в константную Fc-область IgG человека молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе. В более предпочтительном варианте осуществления замены L234A и L235A вводят в константную Fc-область IgG человека молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе. Этот вариант осуществления приводит к получению молекулы на основе антитела с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:268 или 270.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234 и

б) вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL):

где VH включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, которая включает SEQ ID NO: 147 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, которая включает SEQ ID NO: 153 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, которая включает SEQ ID NO: 156 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где VL включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, которая включает SEQ ID NO: 159 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, которая включает SEQ ID NO: 172 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, которая включает SEQ ID NO: 195 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает

вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL):

- где VH включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и VL включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

- где VH включает:

о аминокислотную последовательность CDR-H1, которая включает SEQ ID NO: 147 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

о аминокислотную последовательность CDR-H2, которая включает SEQ ID NO: 153 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

о аминокислотную последовательность CDR-H3, которая включает SEQ ID NO: 156 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

- где VL включает:

о аминокислотную последовательность CDR-L1, которая включает SEQ ID NO: 159 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

о аминокислотную последовательность CDR-L2, которая включает SEQ ID NO: 172 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

о аминокислотную последовательность CDR-L3, которая включает SEQ ID NO: 195 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234 и

б) вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268 и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и

с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

Неожиданно заслуживающие внимания результаты были получены, когда антитело против MuSK (или антигенсвязывающий фрагмент или полинуклеотид, или вектор экспрессии, или клетку-хозяина) вводили в период до начала заболевания. В варианте осуществления субъект-человек, таким образом, не имеет симптомов указанного нейромышечного нарушения, такого как БАС. В таком варианте осуществления у

субъекта-человека была диагностирована предрасположенность к развитию такого нейромышечного нарушения, как БАС, с учетом его/ее семейного анамнеза, генетического фона или с учетом повышенного уровня нейрофиламентов (например, легких цепей нейрофиламентов (НФЛ)), как определено в его/ее сыворотке крови или его/ее спинномозговой жидкости (СМЖ), или с учетом положительного результата генетического исследования на предмет ассоциированной с БАС генетической мутацией(ями), или с учетом изменения уровня биомаркеров БАС, или комбинаций этого. Впрочем, у него/нее еще не появились какие-либо видимые симптомы; он/она является бессимптомным. В предпочтительном варианте осуществления введение субъекту-человеку производят как можно раньше после выявления генетического нарушения или ассоциированной с БАС генетической мутации(й), но пока еще не появились какие-либо видимые симптомы (т.е. бессимптомному субъекту). В более предпочтительном варианте осуществления введение субъекту-человеку производят как можно раньше после выявления генетического нарушения или ассоциированной с БАС генетической мутации(й), но пока еще не появились какие-либо видимые симптомы, при этом указанный субъект-человек имеет в семейном анамнезе случай БАС. "Немедленно" в данном контексте может означать в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 часа или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней, или в течение 1, 2, 3 или 4 недель. В этом контексте при таком лечении присутствует ограниченная или отсутствует токсичность и/или побочные эффекты или любые вредные эффекты на случай, если диагноз БАС не подтвердится.

В другом аспекте изобретения предложена комбинация, включающая антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, и антихолинергическое соединение. Указанная комбинация предпочтительно предназначена для применения при лечении нейромышечного заболевания у субъекта-человека.

Указанное нейромышечное нарушение характеризуется сниженной нейромышечной передачей и/или денервацией НМС (нейромышечного синапса). Нейромышечное нарушение характеризуется по меньшей мере одним из следующего:

- a. повышенная возбудимость мускариновых рецепторов,
- b. гибель мотонейронов,
- c. денервация нейромышечного синапса (НМС) и
- d. нарушение синаптической передачи.

В варианте осуществления нейромышечное нарушение выбрано из группы, состоящей из: бокового амиотрофического склероза (БАС), спинальной мышечной атрофии (СМА), миастении, врожденной миастении, миастенического синдрома Ламберта-Итона (LEMS), болезни Лайма, полиомиелита, постполиомиелитного синдрома, интоксикации тяжелыми металлами, синдрома Кеннеди, болезни Тея-Сакса взрослых, наследственной спастической параплегии, мультифокальной нейропатии, шейного спондилеза, экстремедуллярной опухоли с компрессионной радикулопатией и

миелопатией, миозита с тельцами включения, прогрессирующего бульбарного паралича, прогрессирующей мышечной атрофии, синдрома мотонейронов и тиреотоксической миопатии. В предпочтительном варианте осуществления нейромышечным заболеванием является БАС

В этом контексте комбинация не требует, чтобы антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, и антихолинэргическое соединение физически присутствовали вместе в одной композиции.

В варианте осуществления антихолинэргическое соединение вводят отдельно, последовательно или параллельно. В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят в период до начала заболевания или в течение 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев до начала заболевания. В варианте осуществления указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят в период до начала заболевания или предпочтительно в течение 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев до начала заболевания, и/или где антихолинэргическое соединение вводят в начале заболевания или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 недель после начала заболевания. В этом контексте субъект-человек в период до начала заболевания может означать, что субъект-человек не имеет симптомов указанного нейромышечного нарушения. В варианте осуществления у субъекта, получавшего антитело, сначала была диагностирована предрасположенность к развитию нейромышечного нарушения или заболевания.

В варианте осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент связывает последовательность Frizzled (Fz)-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 129.

В варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, включающую по меньшей мере 80% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 266 или 267.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент является антитело-агонистом к MuSK и/или имеет сниженную или устраненную эффекторную функцию.

В варианте осуществления сниженная или устраненная эффекторная функция получена в результате введения одной или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) в константную Fc-область человеческого IgG SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q;

замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; или замена P396L.

В предпочтительном варианте осуществления замену L234A или L235A вводят в константную Fc-область IgG человека молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе. В более предпочтительном варианте осуществления замены L234A и L235A вводят в константную Fc-область IgG человека молекулы на основе антитела, описанной в настоящем документе. Этот вариант осуществления приводит к получению молекулы на основе антитела с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:268 или 270.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234 и

б) вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL):

где VH включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, которая включает SEQ ID NO: 147 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, которая включает SEQ ID NO: 153 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, которая включает SEQ ID NO: 156 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где VL включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, которая включает SEQ ID NO: 159 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, которая включает SEQ ID NO: 172 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, которая включает SEQ ID NO: 195 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL):

- где VH включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и VL включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

- где VH включает:

о аминокислотную последовательность CDR-H1, включающая SEQ ID NO: 147 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

о аминокислотную последовательность CDR-H2, которая включает SEQ ID NO: 153 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

о аминокислотную последовательность CDR-H3, которая включает SEQ ID NO: 156 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

- где VL включает:

о аминокислотную последовательность CDR-L1, которая включает SEQ ID NO: 159 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

о аминокислотную последовательность CDR-L2, которая включает SEQ ID NO: 172 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

о аминокислотную последовательность CDR-L3, которая включает SEQ ID NO: 195 или имеет 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268 и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и

с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 270 и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 271, и

с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент (полинуклеотид, вектор экспрессии, клетку-хозяина, бесклеточную систему экспрессии или композицию) вводят в период до начала заболевания (например, за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день до начала заболевания или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 недель до начала заболевания), и антихолинергическое соединение вводят в начале заболевания (например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 недель после начала заболевания). В этом контексте субъект-человек в период до начала заболевания может означать, что субъект-человек не имеет симптомов указанного нейромышечного нарушения, такого как БАС.

В предпочтительном варианте осуществления начало заболевания включает по меньшей мере один из симптомов, выбранных из группы, состоящей из: подергиваний мышц, мышечных судорог, спастичности, мышечной слабости, невнятной и/или гнусавой речи, затруднений при жевании или глотании, дисфагии, дизартрии и одышки. В более

предпочтительном варианте заболевание представляет собой БАС, и начало заболевания включает по меньшей мере один из симптомов, выбранных из группы, состоящей из: подергиваний мышц, мышечных судорог, спастичности, мышечной слабости, невнятной и/или гнусавой речи, затруднений при жевании или глотании, дисфагии, дизартрии и одышки.

Начало заболевания может быть оценено врачом или ветеринаром. В варианте осуществления начало потери веса считается началом заболевания.

В предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи

включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,
- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и
- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,
- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и
- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,
- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и
- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, где замену(ы) L234A и/или

L235A, пронумерованную согласно системе нумерации EU, вводят в указанную Fc-область, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, где замена(ы) L234A и/или L235A, пронумерованная согласно системе нумерации EU, введена в указанную Fc-область, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:156 (3B2g2m1), и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 268 и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 269, и

с) Где одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) были введены в полноразмерную тяжелую цепь: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело

против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

- а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268 и
- б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и
- с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

- а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 270, и
- б) Полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 271, и

с) Где одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) были введены в полноразмерную тяжелую цепь: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

- а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 270, и
- б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 271, и
- с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A пронумерованный согласно системе нумерации EU.

В вариантах осуществления антихолинергическое соединение является антагонистом мускариновых рецепторов. Мускариновый рецептор, также известный как мускариновый ацетилхолиновый рецептор или mAXP представляет собой ацетилхолиновый рецептор, который образует G-белковый рецепторный комплекс в клеточной мембране некоторых нейронов и других клеток. Мускариновые рецепторы играют несколько ролей при опосредовании эффекта нейромедиатора ацетилхолина. Например, мускариновые рецепторы присутствуют в пресинаптических мембранах

соматических нейронов в нейромышечных синапсах, где они участвуют в регуляции высвобождения ацетилхолина.

Как известно, существует пять подтипов мускариновых рецепторов, M1-M5. Эта классификация определяется их разной селективностью по отношению к некоторым агонистам и антагонистам. Рецепторы M1, M3 и M5 сопряжены с Gq белками в клеточной мембране, тогда как рецепторы M2 и M4 сопряжены с Gi/o белками в клеточной мембране. Без ограничения этой теорией, гены *CHRM1-5* кодируют рецепторы M1-M5 соответственно.

Базальная или конститутивная активность мускаринового рецептора определяется как физическая, биологическая и/или химическая активность рецептора в отсутствие ацетилхолина, агонистов мускариновых рецепторов и антагонистов мускариновых рецепторов.

Агонист мускаринового рецептора, также называемый агонистом мускариновых рецепторов, определяется как соединение, которое повышает физическую, биологическую и/или химическую активность рецептора при контакте с рецептором. Повышенная активность означает активность, подобную активности, вызванной контактом рецептора с ацетилхолином.

Антагонист мускаринового рецептора, также называемый антагонистом мускариновых рецепторов, определяется как нейтральный антагонист мускариновых рецепторов или негативный антагонист мускариновых рецепторов.

Нейтральный антагонист мускариновых рецепторов является соединением, которое конкурирует с нейтральным агонистом мускариновых рецепторов или с негативным антагонистом мускариновых рецепторов за связывание с рецептором, блокируя, таким образом, действие агониста или негативного антагониста (т.е. повышая или понижая активность), тогда как нейтральный антагонист не вызывает значительного изменения базальной активности рецептора при связывании в отдельности.

В вариантах осуществления антихолинергическое соединение является нейтральным антагонистом мускариновых рецепторов.

Негативный антагонист мускариновых рецепторов является соединением, которое снижает физическую, биологическую и/или химическую активность рецептора при контакте с рецептором, даже в отсутствие агониста мускариновых рецепторов. Сниженная активность означает активность, обратную активности, вызываемой при контакте рецептора с ацетилхолином.

В вариантах осуществления антихолинергическое соединение является негативным антагонистом мускариновых рецепторов.

Антагонист мускариновых рецепторов определяется как селективный в отношении одного или больше подтипов мускариновых рецепторов M1, M2, M3, M4 и/или M5, если эффект антагониста (блокирование агониста, блокирование негативного антагониста или снижение активности) является значительным только при контакте мускаринового рецептора с одним или больше подтипами, тогда как существует значительно меньший

эффект или эффект отсутствует при контакте с мускариновым рецептором другого подтипа. Следовательно, если антагонист мускариновых рецепторов считается селективным в отношении мускаринового рецептора М3, то необходимо понимать, что значительно меньший эффект будет получен или эффект не будет получен при контакте такого антагониста с мускариновым рецептором подтипа М1, М2, М4 или М5. В этом контексте значительно меньший может быть по меньшей мере в 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 10000, 100000 или 1000000 раз, или по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 120%, 140%, 160%, 180%, 200%, 220%, 240%, 260%, 280%, 300%, 320%, 340%, 360%, 380%, 400%, 420%, 440%, 460%, 480%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 1000%, 1500%, 2000%, 2500%, 3000%, 3500%, 4000%, 4500%, 5000%, 5500%, 6000%, 6500%, 7000%, 7500%, 8000%, 8500%, 9000%, 9500%, 10000%, 20000%, 30000%, 40000%, 50000%, 60000%, 70000%, 80000%, 90000%, 100000%, 1000000%, 10000000% или 100000000% меньше.

Активность мускариновых рецепторов, предпочтительно подтипа М1, М3 и М5, может быть измерена с помощью динамической визуализации Ca^{2+} . Эти рецепторы регулируют уровень IP_3 , который в свою очередь контролирует высвобождение Ca^{2+} из внутренних депо [7].

В вариантах осуществления антихолинергическое соединение является антагонистом мускариновых рецепторов, который является:

- селективным в отношении мускаринового рецептора М1, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М3, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М5, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М1 и мускаринового рецептора М3, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М1 и мускаринового рецептора М5, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М3 и мускаринового рецептора М5, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М1, мускаринового рецептора М3 и мускаринового рецептора М5.

В вариантах осуществления антихолинергическое соединение является антагонистом мускариновых рецепторов, который является:

- селективным в отношении мускаринового рецептора М3, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М1 и мускаринового рецептора М3, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М3 и мускаринового рецептора М5, или
- селективным в отношении мускаринового рецептора М1, мускаринового рецептора М3 и мускаринового рецептора М5.

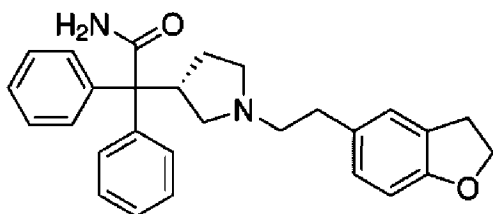
В вариантах осуществления антихолинергическим соединением является

дарифенацин, ипратропия бромид, тиотропия бромид, тропий, гликопирроний, аклидиний, умеклидиний, солифенацин, дициломин, фезотеродин, флавоксат, гликопирролат, пропантелин, 1R,2R,4S,5S,7S)-7-[(4-фтор-2-(тиофен-2-ил)фенил}карбамоил)-окси]-9,9-диметил-3-окса-9-азатрицикло[3.3.1.0^{2,4}]нонан-9-формат (BS46 в [38]), N-(2-[3-([3R]-1-(циклогексилметил)-3-пиперидинил)метиламино)-3-оксопропил]амино-2-оксоэтил)-3,3,3-трифенил-пропионамид (J-115311 в [39]), производные 3,3,3-трифенилпропионамида с одним или двумя аминокислотными остатками между остатком трифенилпропионовой кислоты и пиперидинилметиламиногруппой ([40]), OrM3 ([41]) или (3R)-3-[[[(3-фторфенил)(3,4,5-трифторфенил)метил]амино]карбонил]окси]-1-[2-оксо-2-(2-тиенил)этил]-1-азониабисцикло[2.2.2]октанбромид (CHF 5407 в [41]). Без ограничения этой теорией, эти соединения можно считать антагонистами мускариновых рецепторов.

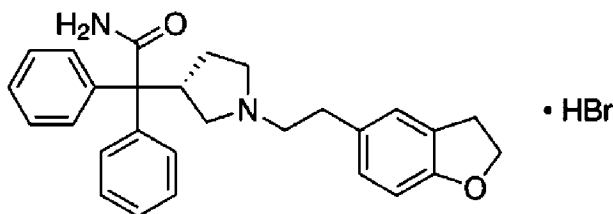
В вариантах осуществления антихолинергическим соединением является дарифенацин, ипратропия бромид, тиотропия бромид, тропий, гликопирроний, аклидиний, умеклидиний, солифенацин, дициломин, фезотеродин, флавоксат, гликопирролат или пропантелин. Без ограничения этой теорией, дарифенацин, ипратропия бромид и тиотропия бромид можно считать антагонистами мускариновых рецепторов.

В вариантах осуществления антихолинергическим соединением является дарифенацин, ипратропия бромид, тиотропия бромид или тропий. Без ограничения этой теорией, дарифенацин, ипратропия бромид и тиотропия бромид можно считать антагонистами мускариновых рецепторов.

В предпочтительном варианте антихолинергическим соединением является дарифенацин. Дарифенацин может быть представлен следующей структурой:



Предпочтительно, дарифенацин представляет собой дарифенацина гибробромид. Дарифенацина гибробромид может быть представлен следующей структурой:



В вариантах осуществления любое из антихолинергических соединений, раскрытых в вариантах осуществления выше, может присутствовать в виде соответствующей фармацевтически приемлемой соли. В частности, антихолинергическое соединение представляет собой дарифенацин или его фармацевтически приемлемую соль.

Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, без ограничения, соли

щелочных металлов (например, натрия, калия или лития) или щелочноземельных металлов (например, кальция); впрочем, любая соль, которая, как правило, является нетоксичной и эффективной при введении субъекту, подвергающемуся лечению, является приемлемой. Другие соли могут включать, без ограничения: (1) соли присоединения кислот, которые могут быть получены в реакции свободного основания исходного соединения с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромоводородная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота и т.п., или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, (D) или (L) яблочная кислота, малеиновая кислота, уретансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, салициловая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота и т.п.; или (2) соли, образующиеся при замене кислотного протона, присутствующего в исходном соединении, либо ионом металла, например, ионом щелочного металла, ионом щелочноземельного металла или ионом алюминия, либо при образовании координационной связи с органическим основанием, таким как этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, триметамин, N-метилглюкамин и т.п. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны специалистам в данной области, и любые такие фармацевтически приемлемые соли могут рассматриваться в связи с описанными в настоящем документе вариантами осуществления.

Приемлемые соли могут быть получены при использовании стандартных методик, известных в данной области техники, включая (без ограничения) взаимодействие достаточно кислого соединения с подходящим основанием с получением физиологически приемлемого аниона. Подходящие соли присоединения кислот образуются из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Иллюстративные, хотя и неограничивающие примеры солей включают ацетат, аспартат, бензоат, безилат, бикарбонат/карбонат, бисульфат/сульфат, борат, камзилат, цитрат, эдизилат, эсилат, формиат, фумарат, глюцептат, глюконат, глюкуроат, гексафторфосфат, гибензат, гидрохлорид/хлорид, гидробромид/бромид, гидроиодид/иодид, лактат, малат, малеат, малоат, мезилат, метилсульфат, нафтиллат, 2-напсилат, никотинат, нитрат, оротат, оксалат, палнитат, памоат, фосфат/гидрофосфат/дигидрофосфат, сахарат, стеарат, сукцинат, тартрат, тозиат и трифторацетат. Подходящие соли оснований соединений, описанных в настоящем документе, образуются из оснований, которые образуют нетоксичные соли, иллюстративные, хотя и неограничивающие примеры которых включают соли аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамин и цинка. Также могут образовываться полусоли кислот и оснований, например гемисульфатные и гемикальциевые соли.

Антихолинергические соединения, раскрытые в вариантах осуществления выше, можно вводить в виде композиции, предпочтительно терапевтической композиции. В вариантах осуществления композиция изготовлена в форме таблетки пролонгированного действия для приема внутрь один раз в день, включающей дарифенацин, предпочтительно

в виде дарифенацина гидробромида. Предпочтительно композиции включают один или больше следующих наполнителей: безводный двухосновный фосфат кальция, гипромеллоза, стеарат магния, диоксид титана, оксид железа желтый, оксид железа красный, ПЭГ 400 и/или тальк. В одном варианте осуществления композиция известна как ENABLEX™. ENABLEX™ изготавливают в форме, содержащей дарифенацин в дозе 7,5 мг или 15 мг (в виде дарифенацина гидробромида).

В предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1),

и используется антихолинергическое соединение.

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В более предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи

включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1) SEQ

и используется антихолинергическое соединение.

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и вариабельный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где вариабельный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,
- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и
- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В более предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,
- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и
- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,
- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и
- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, где замена(ы) L234A и/или L235A, пронумерованная согласно системе нумерации EU, введена в указанную Fc-область, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где

константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где переменный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

В более предпочтительном варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, где замена(ы) L234A и/или L235A, пронумерованная согласно системе нумерации EU, введена в указанную Fc-область, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где константная Fc-область человеческого IgG дикого типа включает SEQ ID NO: 266 или 267, переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и переменный домен легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

где переменный домен тяжелой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:156 (3B2g2m1), и

где вариабельный домен легкой цепи включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую или состоящую из SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую или состоящую из SEQ ID NO:195 (3B2g2m1).

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 268, и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 269, и

с) Где одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) были введены в полноразмерную тяжелую цепь: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268, и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и

с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 270, и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 271, и

с) Где одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) были введены в полноразмерную тяжелую цепь: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

В варианте осуществления идентичность или подобие составляет по меньшей мере 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%.

В варианте осуществления нейромышечным нарушением является БАС, и антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 270, и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 271, и

с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

В варианте осуществления субъект-человек или пациент, у которого диагностировано нейромышечное нарушение, такое как одно из описанных выше, антитело к MuSK согласно настоящему изобретению, необязательно в комбинации с антихолинэргическим соединением, вводят такому пациенту в количестве, достаточном для полного излечения, лечения или, по меньшей мере, частичного устранения симптомов заболевания (выявленных согласно биохимической, гистологической и/или поведенческой оценке), включая его осложнения и промежуточные патологические фенотипы при развитии заболевания. В некоторых вариантах осуществления введение терапевтических молекул согласно настоящему изобретению уменьшает или устраняет нейромышечное

нарушение.

Эффективные дозы предложенных терапевтических молекул согласно настоящему изобретению (т.е. антитела против MuSK или его антигенсвязывающего фрагмента и антихолинэргического соединения) для лечения вышеописанных состояний могут изменяться в зависимости от множества различных факторов, включая способы введения, участок действия, физиологическое состояние пациента, другие вводимые лекарственные препараты. Дозы для лечения обычно подбирают для оптимизации их безопасности и эффективности. В любой конкретный день, когда вводят дозу, доза молекул на основе антитела к MuSK, как описано в настоящем документе, может изменяться от приблизительно 0,0001 до приблизительно 100 мг/кг и обычно от приблизительно 0,01 до приблизительно 20 мг/кг массы тела пациента. Например, доза может составлять 1 мг/кг массы тела или 10 мг/кг массы тела или находиться в диапазоне 1-10 мг/кг массы тела. Иллюстративные дозы, таким образом, включают: от приблизительно 0,1 до приблизительно 10 мг/кг массы тела, от приблизительно 0,1 до приблизительно 5 мг/кг массы тела, от приблизительно 0,1 до приблизительно 2 мг/кг массы тела, от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 мг/кг массы тела, например, приблизительно 0,15 мг/кг массы тела, приблизительно 0,2 мг/кг массы тела, приблизительно 0,5 мг/кг массы тела, приблизительно 1 мг/кг массы тела, приблизительно 1,5 мг/кг массы тела, приблизительно 2 мг/кг массы тела, приблизительно 5 мг/кг массы тела или приблизительно 10 мг/кг массы тела.

Врач или ветеринар, обладающий обычными навыками в данной области, сумеет легко определить и назначить требуемое эффективное количество фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар сможет начать вводить дозы молекулы на основе антитела в фармацевтической композиции на уровнях, меньш тех, которые нужны для достижения требуемого терапевтического эффекта, и постепенно повышать дозу, пока не будет достигнут требуемый эффект. Как правило, подходящей суточной дозой композиции согласно настоящему изобретению будет такое количество соединения, которое представляет собой наименьшую дозу, эффективную для достижения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза обычно будет зависеть от факторов, описанных выше. Введение может быть, например, внутривенным, внутримышечным, внутрибрюшинным или подкожным и, например, введение могут выполнять проксимально участка локализации мишени. При необходимости эффективную суточную дозу фармацевтической композиции можно вводить в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более субдоз, вводимых отдельно через соответствующие интервалы в течение дня, необязательно в стандартных лекарственных формах. Хотя молекулу на основе антитела согласно настоящему изобретению можно вводить отдельно, предпочтительно вводить молекулу на основе антитела в виде фармацевтической композиции, как описано выше.

В терапевтических целях молекулы на основе антитела к MuSK (и, необязательно, антихолинэргического соединения) согласно настоящему изобретению обычно вводят

множественно. Интервалы между введением однократных доз (например, струйным или инфузионным) могут составлять неделю, месяц или год. В некоторых вариантах осуществления молекулы на основе антител MuSK (и необязательно антихолинергическое соединение) по настоящему изобретению вводят субъекту-человеку по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, хотя 7, хотя 8, хотя 9, хотя 10 раз в течение четырех месяцев.

В некоторых вариантах осуществления субъекту-человеку вводят насыщающую дозу или насыщающую дозу фармацевтической композиции с последующим введением поддерживающей дозы или поддерживающих доз. В некоторых случаях вводят три насыщающих дозы, где насыщающие дозы разделены двумя неделями, например, в день 1, день 15 и день 29. В некоторых случаях поддерживающие дозы вводят каждые 4 недели, начиная через 4 недели после введения третьей насыщающей дозы (например, в течение 1 месяца, 2 месяцев, трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти месяцев).

В некоторых вариантах осуществления субъекту-человеку вводят три насыщающих дозы фармацевтической композиции с последующим введением по меньшей мере одной (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) поддерживающей дозы. В некоторых случаях три насыщающих дозы вводят с интервалом в две недели. В некоторых случаях три ударные дозы вводят с интервалом в 14 дней. В некоторых случаях поддерживающую дозу/дозы вводят каждые 4 недели, начиная с 4 недели после третьей насыщающей дозы. В некоторых случаях поддерживающую дозу/дозы вводят каждый месяц, начиная через месяц после третьей насыщающей дозы. В некоторых случаях поддерживающую дозу/дозы вводят каждые 28 дней, начиная через 28 дней после третьей насыщающей дозы.

В некоторых способах дозу корректируют для достижения концентрации в плазме от 1 нг/мл до 1000 мкг/мл, предпочтительно 1-1000 мкг/мл, более предпочтительно 25-300 мкг/мл. В альтернативе терапевтические молекулы согласно настоящему изобретению можно вводить в виде состава с пролонгированным высвобождением, и в этом случае требуется менее частое введение. Доза и частота изменяются в зависимости от полупериода существования антитела у пациента. Как правило, человеческие антитела демонстрируют наибольший полупериод существования, затем следуют гуманизированные антитела, химерные антитела и нечеловеческие антитела. Молекулы scFv обычно имеют короткие полупериоды существования в сыворотке.

В другом варианте осуществления фармацевтическую композицию, включающую последовательность рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу на основе антитела к MuSK, как описано в настоящем документе (и, необязательно, в комбинации с антихолинергическим соединением), вводят субъекту для облегчения экспрессии *in vivo* и образования молекулы на основе антитела для лечения состояний, опосредованных снижением сигнализации и/или фосфорилирования MuSK. Конструкции векторов экспрессии, подходящие для применения в этом варианте осуществления

изобретения, описаны выше.

Композиции полинуклеотидов могут привести к образованию молекулы на основе антитела к MuSK у субъекта в течение по меньшей мере приблизительно 1 часа, 2 часов, 3 часов, 4 часов, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 20 часов, 25 часов, 30 часов, 35 часов, 40 часов, 45 часов, 50 часов или 60 часов от введения композиции субъекту. Композиция может привести к образованию молекулы на основе антитела у субъекта в течение по меньшей мере приблизительно 1 дня, 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней или 10 дней от введения композиции субъекту. Композиция может привести к образованию молекулы на основе антитела у субъекта в течение от приблизительно 1 часа до приблизительно 6 дней, от приблизительно 1 часа до приблизительно 5 дней, от приблизительно 1 часа до приблизительно 4 дней, от приблизительно 1 часа до приблизительно 3 дней, от приблизительно 1 часа до приблизительно 2 дней, от приблизительно 1 часа до приблизительно 1 дня, от приблизительно 1 часа до приблизительно 72 часов, от приблизительно 1 часа до приблизительно 60 часов, от приблизительно 1 часа до приблизительно 48 часов, от приблизительно 1 часа до приблизительно 36 часов, от приблизительно 1 часа до приблизительно 24 часов, от приблизительно 1 часа до приблизительно 12 часов или от приблизительно 1 часа до приблизительно 6 часов от введения композиции субъекту.

Композиция при введении нуждающемуся в этом субъекту может привести к постоянному образованию молекулы на основе антитела у субъекта. Композиция может привести к образованию молекулы на основе антитела у субъекта в течение по меньшей мере приблизительно 1 дня, 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 дня, 22 дней, 23 дней, 24 дней, 25 дней, 26 дней, 27 дней, 28 дней, 29 дней, 30 дней, 31 дня, 32 дней, 33 дней, 34 дней, 35 дней, 36 дней, 37 дней, 38 дней, 39 дней, 40 дней, 41 дня, 42 дней, 43 дней, 44 дней, 45 дней, 46 дней, 47 дней, 48 дней, 49 дней, 50 дней, 51 дня, 52 дней, 53 дней, 54 дней, 55 дней, 56 дней, 57 дней, 58 дней, 59 дней или 60 дней.

Термин "лечение" или "лечить" при использовании в настоящем документе означает уменьшение, замедление или обратное изменение прогрессирования или тяжести заболевания или нарушения, или уменьшение, замедление или обратное изменение одного или больше симптомов или побочных эффектов такого заболевания или нарушения. В рамках настоящего изобретения, "лечение" или "лечить" также означает подход к получению полезных или требуемых клинических результатов, где "полезные или требуемые клинические результаты" включают, без ограничения, облегчение симптома, уменьшение степени нарушения или заболевания, стабильное (т.е. не ухудшающееся) заболевание или нарушение, задержку или замедление прогрессирования заболевания или нарушения, снижение тяжести или облегчение заболевания или нарушения и ремиссию заболевания или нарушения, частичную или полную, поддающуюся или не поддающуюся

обнаружению.

Таким образом, в варианте осуществления антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент согласно изобретению или композиция согласно изобретению предназначены для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, где указанное лечение приводит к стабилизации указанного нарушения. Стабилизация может длиться в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или по меньшей мере 1, 2 или 3 лет. Каждый из терапевтических эффектов, далее характеризуемых в настоящем документе, может рассматриваться как стабилизация нарушения.

В варианте осуществления применение антитела против MuSK или антигенсвязывающего фрагмента (или полинуклеотида, вектора экспрессии, клетки-хозяина, композиции) демонстрирует терапевтический эффект у подвергнутого лечению субъекта-человека, определенный в настоящем документе.

Такой терапевтический эффект может быть по меньшей мере одним из эффектов, раскрытых ниже.

При связывании с эпитопом MuSK, антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент согласно изобретению способны вызывать агонистическую активность MuSK. В контексте заявки "вызывать агонистическую активность MuSK" можно заменить фразой "активировать MuSK". Агонистическая активность MuSK или активация MuSK могут быть вызваны на молекулярном и/или на клеточном уровне и/или в более сложной биологической системе, такой как НМС, синапс, живой организм. В контексте заявки агонистическая активность MuSK можно заменить активацией MuSK-индуцированного сигнала или индукцией активации MuSK в мышечной клетке в НМС. MuSK-индуцированный сигнал (или активация MuSK или активность MuSK) может быть по меньшей мере одним из индукции димеризации MuSK, индукции фосфорилирования тирозина MuSK, индукции или усиления индукции АХР, кластеризованных в НМС (или кластеризованных *in vitro* в скоплениях АХР мышечных трубочек), увеличения числа или процента полностью иннервированных НМС, уменьшения числа или процента полностью денервированных НМС, сохранения числа или процента полностью иннервированных НМС (стабилизация заболевания/стабилизация прогрессирования заболевания), улучшения надежности синаптической передачи, улучшения двигательной активности, профилактики/стабилизации или даже сокращения/уменьшения гибели мотонейронов, увеличения продолжительности жизни субъекта, подвергнутого лечению.

MuSK-индуцированный сигнал, вызванный антителом против MuSK согласно изобретению, может быть индукцией димеризации MuSK, которую можно оценивать с помощью Вестерн-блоттинга. В рамках изобретения агонистическую активность MuSK можно оценивать, когда индукция димеризации MuSK повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% или больше в эксперименте с использованием антитела согласно изобретению по сравнению с такими же условиями

эксперимента без какого-либо антитела или с отрицательным контролем, или с антителом отрицательного контроля. В альтернативе, в рамках изобретения агонистическую активность антитела MuSK можно оценивать, когда индукция димеризации MuSK является такой же или приблизительно такой же (на 20% меньше, на 10% меньше или такой же, или на 10% больше или на 20% больше) в эксперименте с использованием антитела согласно изобретению по сравнению с такими же условиями эксперимента без антитела положительного контроля. Такую димеризацию MuSK можно оценивать без агрина. Положительным контролем при оценке димеризации MuSK является агрин.

MuSK-индуцированный сигнал, вызванный антителом против MuSK согласно изобретению, может быть индукцией фосфорилирования тирозина MuSK, и такое фосфорилирование можно оценивать с помощью Вестерн-блоттинга с использованием антитела, специфичного к фосфорилированию тирозина. В рамках изобретения агонистическую активность MuSK можно оценивать, когда индукция фосфорилирования тирозина MuSK повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 120%, 150%, 180%, 200% или больше в эксперименте с использованием антитела согласно изобретению по сравнению с такими же условиями эксперимента без какого-либо антитела. В альтернативе, в рамках изобретения, агонистическую активность MuSK можно оценивать, когда индукция фосфорилирования тирозина MuSK является такой же или примерно такой же (на 20% меньше, на 10% меньше или такой же, или на 10% больше или на 20% больше) в эксперименте с использованием антитела изобретения по сравнению с такими же условиями эксперимента без антитела положительного контроля. Такое фосфорилирование тирозина MuSK можно оценивать без агрина. Положительным контролем при оценке фосфорилирования тирозина MuSK является агрин.

MuSK-индуцированный сигнал, вызванный антителом против MuSK согласно изобретению, может быть индукцией кластеризации ацетилхолинового рецептора (АХР) в НМС, при этом такую кластеризацию можно оценивать при окрашивании АХР с использованием антитела, специфично связывающегося с АХР, и визуализации такого окрашивания при флуоресцентной микроскопии с использованием методов, известных специалисту. В альтернативе кластеризацию можно оценивать *in vitro* в скоплениях АХР на мышечных трубочках. Предпочтительным антителом, используемым для визуализации кластеризации АХР, является антитело, специфичное к АХР. Более предпочтительным антителом является AlexaFluor488-конъюгированный α -бунгаротоксин (B13422, ThermoFisher). Обычно исследуемую область фиксируют в параформальдегиде и инкубируют при комнатной температуре с соответствующим антителом согласно изобретению или с положительным или отрицательным контролем, и затем каждую область промывают PBS и исследуют с помощью эпифлуоресцентной микроскопии. В рамках изобретения агонистическую активность MuSK можно оценивать, когда индукция кластеризации АХР в НМС является такой же или приблизительно такой же (т.е. на 20% меньше, на 10% меньше или такой же, или на 10% больше или на 20% больше), или

повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% в эксперименте с использованием антитела согласно изобретению по сравнению с такими же условиями эксперимента без какого-либо антитела. Такую кластеризацию АХР можно оценивать без агрина. Положительным контролем при оценке кластеризации АХР является агрин. В предпочтительном варианте осуществления антитело против MuSK согласно изобретению демонстрирует индукцию или увеличение индукции кластеризации ацетилхолиновых рецепторов в НМС, при этом такую кластеризацию можно оценивать с помощью визуализации окрашивания или увеличения окрашивания АХР в НМС диафрагм мышцей по сравнению с окрашиванием, полученным без антитела-агониста к MuSK. В варианте осуществления такая индукция или увеличение кластеризации АХР в НМС приводит к более нормальной/физиологической морфологии НМС, сохраняющей синаптическую иннервацию и/или пре- и постсинаптическое выравнивание.

MuSK-индуцированный сигнал, вызванный антителом против MuSK согласно изобретению в мышечной клетке в НМС, может быть увеличением количества или процента полностью иннервированных НМС, уменьшением количества или процента полностью денервированных НМС, сохранением количества или процента полностью иннервированных НМС (стабилизация заболевания/стабилизация прогрессирования заболевания), улучшением надежности синаптической передачи, предотвращением/стабилизацией или даже уменьшением/снижением гибели мотонейронов. Каждую из этих характеристик можно оценивать с использованием методов, известных квалифицированному специалисту, таких как окрашивание АХР с использованием антитела α -бунгаротоксина, как определено ранее в настоящем документе, пресинаптическое мечение и количественная оценка иннервации с помощью флуоресцентной конфокальной микроскопии, ЭМГ одиночных мышечных волокон, электрофизиология одиночных синапсов, окрашивание тел клеток мотонейронов в специфических областях костного мозга. Все эти анализы были описаны в публикации Cantor S et al 2018 (Elife, 2018;7:e34375).

Антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент могут улучшать двигательную активность и/или силу захвата у субъекта после лечения. Двигательную активность и силу захвата у субъекта после лечения можно считать улучшенными, если такая двигательная активность или сила захвата могли быть увеличены по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% в эксперименте с использованием антитела против MuSK согласно изобретению по сравнению с такими же условиями эксперимента без какого-либо антитела. Двигательную активность (или силу захвата) субъекта после лечения можно оценивать с использованием анализов, известных специалисту. В экспериментальной части раскрыты некоторые примерные методы.

Антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент могут улучшить сократительные свойства мышцы в НМС субъекта после лечения. Сократительные свойства мышцы субъекта после лечения можно считать улучшенными, когда такие сократительные свойства могут повышаться по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%,

50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% в эксперименте с использованием антитела против MuSK согласно изобретению по сравнению с такими же условиями эксперимента без какого-либо антитела. Сократительные свойства мышцы субъекта после лечения (в НМС) можно оценивать с помощью анализов, известных специалисту. В экспериментальной части раскрыты некоторые иллюстративные способы. В этом контексте субъектом может быть животное.

Антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент могут улучшать устойчивость к усталости мышцы в НМС субъекта после лечения. Устойчивость к усталости мышцы субъекта после лечения можно считать улучшенной, когда такие свойства устойчивости к усталости могут улучшаться по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% в эксперименте с использованием антитела против MuSK согласно изобретению по сравнению с такими же условиями эксперимента без какого-либо антитела. Свойства устойчивости к усталости мышцы субъекта после лечения (в НМС) можно оценивать с помощью анализов, известных специалисту. В экспериментальной части раскрыты некоторые иллюстративные способы. В этом контексте субъектом может быть животное.

Антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент могут вызывать увеличение массы мышцы в НМС субъекта после лечения. Массы мышцы у субъекта после лечения может считаться улучшенной, если такая масса может увеличиваться по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% в эксперименте с использованием антитела против MuSK согласно изобретению по сравнению с такими же условиями эксперимента без какого-либо антитела. В экспериментальной части раскрыты некоторые иллюстративные способы. В этом контексте субъектом может быть животное.

MuSK-индуцированный сигнал или эффект, вызванный антителом против MuSK согласно изобретению, можно охарактеризовать улучшением качества жизни или задержкой ухудшения качества жизни субъекта после лечения. Качество жизни можно определять количественно по весу субъекта. Улучшение качества жизни или задержка ухудшения качества жизни может составить по меньшей мере 1 день, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 1 год или больше. Это оценивают в сравнении с ожидаемым качеством жизни (или ожидаемым ухудшением качества жизни) субъекта, страдающего таким же заболеванием и не проходившего лечение антителом согласно изобретению. В этом контексте субъектом может быть животное.

MuSK-индуцированный сигнал или эффект, вызванный антителом против MuSK согласно изобретению, можно охарактеризовать продолжительностью жизни субъекта после лечения. Увеличение продолжительности может составить по меньшей мере 1 день, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 1 год или больше. Это оценивают в сравнении с ожидаемой продолжительностью жизни субъекта, страдающего

таким же заболеванием и не проходившего лечение антителом согласно изобретению. В этом контексте субъектом может быть животное.

Свойства антитела против MuSK, описанного в настоящем документе, можно измерять в соответствии с анализами, описанными в настоящем документе. Активирующая активность антитела-агониста против MuSK может быть измерена в сравнении с контролем, например, антителом отрицательного контроля (такого как изотипический контроль), которое может не связывать MuSK. Предпочтительным контрольным антителом, не связывающимся с MuSK, является мотавизумаб, который направлен против RSV (Обзор, MAbs, 1(5), 439-442, Sept-Octo 2009, DOI: 10.4161/mabs.1.5.9496). Предпочтительным агонистическим антителом положительного контроля против MuSK является mAb#13 (Genentech). Другой предпочтительной молекулой положительного контроля для подтверждения MuSK-активирующей активности является агрин (агрин крысы, R&D systems, 550-AG).

В другом варианте осуществления антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент (или полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, композиция) в комбинации с антихолинергическим соединением, как определено ранее в настоящем документе, демонстрируют терапевтический эффект у субъекта-человека после лечения, определенный в настоящем документе. В предпочтительном варианте осуществления дополнительные и, более предпочтительно, синергические терапевтические эффекты возникают, когда применяют оба соединения по сравнению с использованием антитела против MuSK или антигенсвязывающего фрагмента (или полинуклеотида, вектора экспрессии, клетки-хозяина, композиции) в качестве отдельной терапии.

Дополнительными терапевтическими эффектами могут быть снижение ("ослабление") мускариновой активности перисинаптических шванновских клеток (ПШК), восстановление НМС. Такими дополнительными терапевтическими эффектами могут быть специфическое снижение ("ослабление") мускариновой активности ПШК. Такими дополнительными терапевтическими эффектами могут быть снижение ("ослабление") гипервозбудимости ПШК в контексте нейромышечного нарушения. Соединение или комбинация настоящего изобретения специфично воздействует на мускариновый рецептор. Соединение или комбинация настоящего изобретения, по-видимому, не оказывает никакого воздействия на пуригенный рецептор, экспрессируемый на ПШК.

Восстановление НМС может быть индукцией или увеличением спраутинга нервов и/или увеличением статуса иннервации НМС. Каждый из этих эффектов можно оценивать с использованием способов, известных специалисту. Кроме того, подавление мускариновой активности ПШК может помочь сохранить иннервацию НМС.

В рамках изобретения индукция или увеличение спраутинга нервов (или статуса иннервации НМС) можно оценивать, когда индукция спраутинга нервов в НМС (или статуса иннервации НМС) повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%,

60%, 70%, 80%, 90% или 100% в эксперименте с использованием антихолинергического соединения по сравнению с такими же условиями эксперимента без указанного соединения. Спраутинг нервов или статус иннервации можно оценивать с помощью иммуногистохимии на нейромышечных препаратах. В экспериментальной части раскрыто, как получить такие нейромышечные препараты.

В рамках изобретения снижение мускариновой активности ПШК (или снижение мускариновой гипервозбудимости или перевозбудимости) можно было оценивать, когда такая активность (или такая гипервозбудимость или перевозбудимость) снижалась по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% в эксперименте с использованием антихолинергического соединения по сравнению с такими же условиями эксперимента без указанного соединения.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления применение антитела против MuSK или антигенсвязывающего фрагмента (или полинуклеотида, вектора экспрессии, клетки-хозяина, композиции), предпочтительно в комбинации с антихолинергическим соединением, как определено ранее в настоящем документе, демонстрирует один или больше следующих терапевтических эффектов:

- увеличение количества или процента полностью иннервированных НМС у субъекта, сохранение количества или процента полностью иннервированных НМС у субъекта, уменьшение количества или процента полностью денервированных НМС у субъекта, улучшение надежности синаптической передачи, предотвращение, стабилизация или снижение гибели мотонейронов у субъекта; и/или

- улучшение двигательной активности и/или силы захвата у субъекта; и/или

- улучшение сократительных свойств мышцы в НМС субъекта; и/или

- улучшение устойчивости к усталости мышцы в НМС субъекта; и/или

- индукция увеличения массы мышцы в НМС субъекта; и/или

- улучшение качества жизни или задержка ухудшения качества жизни субъекта;

и/или

- снижение мускариновой активности (или снижение мускариновой гипервозбудимости или перевозбудимости) перисинаптических шванновских клеток (ПСК) у субъекта или восстановление НМС у субъекта.

Как показано в экспериментальной части, синергические терапевтические эффекты достигаются в случае применения обоих соединений. Такие синергические эффекты включают улучшение/увеличение следующих параметров/симптомов: локомоторная функция и сила захвата, сократительные свойства мышцы в НМС, устойчивость мышцы к усталости, мышечная масса, влияние на общее состояние жизни, такое как масса тела.

"Эффективное количество" молекулы на основе антител относится к количеству, достаточному, в необходимых дозах и в течение требуемых периодов времени, для достижения предполагаемого биологического эффекта или требуемого терапевтического результата, включая, без ограничения, клинические результаты. Фраза "терапевтически эффективное количество" применительно к молекуле на основе антитела согласно

изобретению служит для обозначения количества антитела, достаточного для улучшения, облегчения, стабилизации, обратного изменения, замедления или задержки прогрессирующего нарушения или патологического состояния или симптома нарушения или заболевания. В одном из вариантов осуществления способ согласно настоящему изобретению предусматривает введение молекулы на основе антитела в комбинации с другими соединениями. В таких случаях "эффективное количество" представляет собой количество комбинации, достаточное, чтобы вызвать предполагаемый биологический эффект.

В еще одном аспекте предложен способ предупреждения и/или лечения нейромышечного заболевания и/или нарушения и/или состояния, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела против MuSK или его антигенсвязывающего фрагмента (полинуклеотида, вектора экспрессии, клетки-хозяина или композиции, как ранее определено в настоящем документе) и предпочтительно антихолинергического соединения. Все признаки данного способа были определены ранее в настоящем документе.

В еще одном аспекте предложено применение антитела против MuSK или его антигенсвязывающего фрагмента (полинуклеотида, вектора экспрессии, клетки-хозяина или композиции, как определено ранее в настоящем документе) и предпочтительно антихолинергического соединения для производства лекарственного средства для предупреждения и/или лечения нейромышечного заболевания и/или нарушения и/или состояния. Все признаки такого применения были определены ранее в настоящем документе.

Все документы, цитируемые в настоящем описании, настоящим включены посредством отсылки во всей своей полноте. Если не указано иное, все термины, используемые при раскрытии изобретения, включая технические и научные термины, имеют значение, обычно известное среднему специалисту в области, к которой относится настоящее изобретение. В качестве дополнительных указаний включены определения терминов для лучшего понимания описания настоящего изобретения. Каждый вариант осуществления, описанный в настоящем документе, можно комбинировать с любым другим вариантом осуществления, описанным в настоящем документе, если не указано иное.

Настоящее изобретение далее описано с помощью следующих примеров, которые не следует толковать как ограничивающие объем изобретения.

ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ИСТОЧНИКИ

1. L. R. Fischer et al., Amyotrophic lateral sclerosis is a distal axonopathy: evidence in mice and man. *Exp Neurol* 185, 232-240 (2004).
2. D. Frey et al., Early and selective loss of neuromuscular synapse subtypes with low sprouting competence in motoneuron diseases. *J Neurosci* 20, 2534-2542 (2000).
3. E. Martineau, A. Di Polo, C. Vande Velde, R. Robitaille, Dynamic neuromuscular remodeling precedes motor-unit loss in a mouse model of ALS. *Elife* 7, (2018).

4. S. Pun, A. F. Santos, S. Saxena, L. Xu, P. Caroni, Selective vulnerability and pruning of phasic motoneuron axons in motoneuron disease alleviated by CNTF. *Nat Neurosci* 9, 408-419 (2006).
5. E. Tremblay, E. Martineau, R. Robitaille, Opposite Synaptic Alterations at the Neuromuscular Junction in an ALS Mouse Model: When Motor Units Matter. *J Neurosci* 37, 8901-8918 (2017).
6. C. Yang et al., Mutant PFN1 causes ALS phenotypes and progressive motor neuron degeneration in mice by a gain of toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113, E6209-E6218 (2016).
7. D. Arbour, E. Tremblay, E. Martineau, J. P. Julien, R. Robitaille, Early and persistent abnormal decoding by glial cells at the neuromuscular junction in an ALS model. *J Neurosci* 35, 688-706 (2015).
8. D. Arbour, C. Vande Velde, R. Robitaille, New perspectives on amyotrophic lateral sclerosis: the role of glial cells at the neuromuscular junction. *J Physiol* 595, 647-661 (2017).
9. C. P. Ko, R. Robitaille, Perisynaptic Schwann Cells at the Neuromuscular Synapse: Adaptable, Multitasking Glial Cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7, a020503 (2015).
10. R. Robitaille, B. S. Jahromi, M. P. Charlton, Muscarinic Ca²⁺ responses resistant to muscarinic antagonists at perisynaptic Schwann cells of the frog neuromuscular junction. *J Physiol* 504 (Pt 2), 337-347 (1997).
11. D. Rochon, I. Rousse, R. Robitaille, Synapse-glia interactions at the mammalian neuromuscular junction. *J Neurosci* 21, 3819-3829 (2001).
12. M. C. Wright et al., Distinct muscarinic acetylcholine receptor subtypes contribute to stability and growth, but not compensatory plasticity, of neuromuscular synapses. *J Neurosci* 29, 14942-14955 (2009).
13. J. Georgiou, R. Robitaille, M. P. Charlton, Muscarinic control of cytoskeleton in perisynaptic glia. *J Neurosci* 19, 3836-3846 (1999).
14. J. Georgiou, R. Robitaille, W. S. Trimble, M. P. Charlton, Synaptic regulation of glial protein expression in vivo. *Neuron* 12, 443-455 (1994).
15. J. P. O'Malley, M. T. Waran, R. J. Balice-Gordon, In vivo observations of terminal Schwann cells at normal, denervated, and reinnervated mouse neuromuscular junctions. *J Neurobiol* 38, 270-286 (1999).
16. P. A. Perez-Gonzalez, Provost, F., Rousse, I., Benzina, O., Piovesana, R., Darabid, H., Lamoureux, B., Wang, Y-S, Arbour, D. and Robitaille, R., Functional adaptation of glial cells at neuromuscular junctions in response to injury. (In revision to *GLIA* (GLIA-00440-202)).
17. M. L. Reynolds, C. J. Woolf, Terminal Schwann cells elaborate extensive processes following denervation of the motor endplate. *J Neurocytol* 21, 50-66 (1992).
18. Y. J. Son, W. J. Thompson, Nerve sprouting in muscle is induced and guided by processes extended by Schwann cells. *Neuron* 14, 133-141 (1995).
19. Y. J. Son, W. J. Thompson, Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons. *Neuron* 14, 125-132 (1995).
20. E. Martineau, D. Arbour, J. Vallee, R. Robitaille, Properties of Glial Cell at the

Neuromuscular Junction Are Incompatible with Synaptic Repair in the SOD1(G37R) ALS Mouse Model. *J Neurosci* 40, 7759-7777 (2020).

21. S. J. Burden, The formation of neuromuscular synapses. *Genes Dev* 12, 133-148 (1998).

22. S. Cantor et al., Preserving neuromuscular synapses in ALS by stimulating MuSK with a therapeutic agonist antibody. *Elife* 7, (2018).

23. M. J. Perez-Garcia, S. J. Burden, Increasing MuSK activity delays denervation and improves motor function in ALS mice. *Cell Rep* 2, 497-502 (2012).

24. J. Oury et al., Mechanism of disease and therapeutic rescue of Dok7 congenital myasthenia. *Nature* 595, 404-408 (2021).

25. C. R. Chapple, Darifenacin: a novel M3 muscarinic selective receptor antagonist for the treatment of overactive bladder. *Expert Opin Investig Drugs* 13, 1493-1500 (2004).

26. F. Haab, Darifenacin in the treatment of overactive bladder. *Drugs Today (Barc)* 41, 441-452 (2005).

27. C. Chapple et al., A pooled analysis of three phase III studies to investigate the efficacy, tolerability and safety of darifenacin, a muscarinic M3 selective receptor antagonist, in the treatment of overactive bladder. *BJU Int* 95, 993-1001 (2005).

28. F. Haab, L. Stewart, P. Dwyer, Darifenacin, an M3 selective receptor antagonist, is an effective and well-tolerated once-daily treatment for overactive bladder. *Eur Urol* 45, 420-429; discussion 429 (2004).

29. E. Callegari et al., A comprehensive non-clinical evaluation of the CNS penetration potential of antimuscarinic agents for the treatment of overactive bladder. *Br J Clin Pharmacol* 72, 235-246 (2011).

30. G. G. Kay, U. Ebinger, Preserving cognitive function for patients with overactive bladder: evidence for a differential effect with darifenacin. *Int J Clin Pract* 62, 1792-1800 (2008).

31. M. Filali, R. Lalonde, S. Rivest, Sensorimotor and cognitive functions in a SOD1(G37R) transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Behav Brain Res* 225, 215-221 (2011).

32. P. C. Wong et al., An adverse property of a familial ALS-linked SOD1 mutation causes motor neuron disease characterized by vacuolar degeneration of mitochondria. *Neuron* 14, 1105-1116 (1995).

33. A. C. Ludolph et al., Guidelines for preclinical animal research in ALS/MND: A consensus meeting. *Amyotroph Lateral Scler* 11, 38-45 (2010).

34. S. Boillee et al., Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. *Science* 312, 1389-1392 (2006). 34. Knippenberg, S., et al., Significance of behavioural tests in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Behav Brain Res*, 2010. 213(1): p. 82-7.

35. Rizzuto, E., et al., Measuring Neuromuscular Junction Functionality in the SOD1(G93A) Animal Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Ann Biomed Eng*, 2015. 43(9): p. 2196-206.

36. Dibaj, P., E.D. Schomburg, and H. Steffens, Contractile characteristics of gastrocnemius-soleus muscle in the SOD1G93A ALS mouse model. *Neurol Res*, 2015. 37(8): p. 693-702.

37. Kanning, K.C., A. Kaplan, and C.E. Henderson, Motor neuron diversity in development and disease. *Annu Rev Neurosci*, 2010. 33: p. 409-40.

38. Atkin, J.D., et al., Properties of slow- and fast-twitch muscle fibres in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neuromuscul Disord*, 2005. 15(5): p. 377-88.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Методы

Животные

Мыши с оверхэкспрессией человеческого мутантного трансгена *SOD1^{G37R}*, линии 29, были получены из Jackson Laboratory и выведены в вивариях Монреальского университета на основе C57BL/6. Эта модель на мышах представляет собой модель БАС с поздним началом, медленно прогрессирующую, которая воспроизводит человеческий фенотип заболевания. Описание характеристик фенотипа этой линии было ранее опубликовано в нескольких исследованиях БАС (5, 7, 20, 31, 32). Все эксперименты проводили в соответствии с рекомендациями Канадского совета по содержанию животных и Комитета по этике в области исследований на животных Монреальского университета.

Схема доклинического исследования

Схема доклинического исследования была разработана в соответствии с рекомендациями по доклиническим исследованиям БАС/БМН на животных (33). Исследование проводили двойным слепым методом. Пятнадцать самцов мышей с фоном *SOD1^{G37R}* случайным образом распределяли в три группы.

1. ARGX-119 (3B2g2m1-hIgG1LALAdelk: полноразмерная тяжелая цепь с пониженной эффекторной функцией SEQ ID NO: 268 и полноразмерная легкая цепь с пониженной эффекторной функцией SEQ ID NO: 269) и дарифенацин

2. ARGX-119 (3B2g2m1-hIgG1LALAdelk) и растворитель (контроль дарифенацина)

3. Изотипический контроль мАт+растворитель (контроль дарифенацина)

Лечение ARGX-119 начинали до начала заболевания (до манифестации симптомов или без симптомов), а лечение дарифенацином - до начала заболевания (появление симптомов) и продолжали до умерщвления. Для определения начала симптомов, а также прогрессирования и тяжести симптомов во время прогрессирования заболевания использовали набор неврологических оценок (уровень 1-5, Приложение 1). Начало заболевания оценивали по началу потери веса (34) и появлению тремора, что соответствует баллу 1 по неврологической шкале, при этом конечная точка этого исследования находилась на поздней симптоматической стадии, что соответствует баллу от 3 до 5 по неврологической шкале.

Внутрибрюшинные инъекции антитела к MuSK ARGX-119 (3B2g2m1-hIgG1LALAdelk) или плацебо (мотавизумаб-hIgG1LALAdelk: полноразмерная тяжелая

цепь с пониженной эффекторной функцией SEQ ID NO: 272 и полноразмерная легкая цепь с пониженной эффекторной функцией SEQ ID: 273) начинали при P400 в начальной дозе 20 мг/кг, и продолжали еженедельно в дозе 10 мг/кг до умерщвления. Дарифенацин давали перорально (10 мг/кг, разведенный в ДМСО, 5 дней/неделя) с начала заболевания (~P425). Плацебо для дарифенацина являлся ДМСО. Мыши получали оба лечения в течение приблизительно 4 месяцев, до возраста ~520 дней, медианного возраста, в котором они обычно достигали критических конечных точек заболевания.

Мотавизумаб-hlgG1LALAdelk: SEQ ID NO: 272 получен из SEQ ID NO: 274, а SEQ ID: 273 из SEQ ID: 275.

Лечение, поведенческий мониторинг, эксперименты и анализ результатов проводили вслепую. Стандартные поведенческие измерения БАС проводили еженедельно для измерения прогрессирования заболевания в различных группах исследования. Это включало тест Rotarod с вращающимся стержнем, измерения силы захвата, измерения веса и тест с подвешиванием за хвост для оценки рефлекса разгибания задних конечностей. Во время умерщвления длинный разгибатель пальцев (EDL) и камбаловидную мышцу (SOL) и их иннервацию извлекали и помещены в физиологическую камеру. Было получено два набора измерений. Сначала определяли функциональные свойства мышц (силу и усталость) с использованием датчика силы. Затем мышцы фиксировали и определяли массу мышц.

Протокол теста на ускоряющемся стержне Rotarod

Координацию движений, силу и равновесие оценивали с помощью вращающегося стержня Rotarod (TSE Rotarod, TSE Systems GmbH, Germany). Животных помещали на вращающийся стержень с дисками при начальной скорости 4 об/мин, повышаемой до 40 об/мин за 300 секунд. У мышей было две попытки на блок и 2 блока за сеанс (с временем отдыха между блоками), чтобы оставаться на вращающемся стержне во время протокола ускорения, и два самых длительных периода до падения усредняли.

Сила захвата

Для измерения общей силы конечностей мышей использовали измеритель силы захвата (Фиг. 1С). У мышей было девять попыток на сеанс (3 блока по 3 попытки; блоки были разделены периодом отдыха по 1 минуте), и три лучших значения в каждом блоке усредняли.

Нейромышечные препараты

Препараты мышц EDL и SOL и их иннервирующий нерв препарировали в оксигенированном растворе Рингера (в mM) следующим образом: 110 NaCl, 5 KCl, 1 MgCl₂, 25 NaHCO₃, 2 CaCl₂, 11 глюкозы, 0,3 глутаминовой кислоты, 0,4 глутамин, 5 BES (натриевая соль N, N-бис(2-гидроксиэтил)-2-аминоэтансульфоновой кислоты), 0,036 холина хлорида и $4,34 \times 10^{-7}$ кокарбоксылазы. После диссекции нейромышечные препараты постоянно перфузировали оксигенированным раствором Рингера (95% O₂, 5% CO₂).

Измерения нейромышечных свойств

Нейромышечные препараты EDL и SOL закрепляли вертикально на фиксированном датчике силы (модель 402A-500mN, Aurora Scientific Inc.) с помощью хирургических нитей. Препараты прикрепляли на уровне сухожилий к датчику на одном конце и к оттягиваемому крючку на противоположном конце (Фиг. 2А). Затем к мышце был подключен платиновый электрод сравнения, помещенный около конца мышцы, близко к сухожилию. Для стимуляции мышцы второй платиновый электрод помещали на другой конец мышцы. Чтобы вызвать мышечные сокращения от моторного нерва и нейромышечной активности, большеберцовый нерв (SOL) или глубокий малоберцовый нерв (EDL) всасывали в электрод, изготовленный из полиэтиленовой трубки и заполненный физиологическим раствором. Таким образом, эта система была разработана для того, чтобы вызывать мышечные сокращения при стимуляции мышц и/или нервов. Нейромышечные сократительные базальные силовые ответы были вызваны одним супрамаксимальным квадратным импульсом 500 мВ, 0,1 мс, приложенным к моторному нерву. Мышечные сократительные базальные силовые ответы были вызваны стимуляцией квадратным импульсом 15 В, 1 мс. Оптимальную длину мышцы определяли путем постепенного растяжения мышцы до достижения максимального выходного сократительного усилия.

Кривая силы-частоты: Стимуляцию нервов и мышц проводили для получения стандартной кривой силы-частоты. Чередующиеся стимуляции нервов и мышц проводили с различными частотами в течение 500 мс (5 Гц, 10 Гц, 20 Гц, 30 Гц, 40 Гц, 50 Гц, 60 Гц, 70 Гц, 80 Гц, 90 Гц, 100 Гц, 120 Гц, 140 Гц, 160 Гц, 180 Гц, 200 Гц, 250 Гц и 300 Гц), и регистрировали развиваемое усилие. Между стимуляциями присутствовал двухминутный период покоя. Процент мышечной емкости, используемой нейромышечной системой при стимуляции нервов, выражали как отношение сократительной способности и вычисляли следующим образом для каждой частоты:

$$\frac{\text{Сила}_{\text{Нерв}}}{\text{Сила}_{\text{Мышца}}} \times 100$$

Максимальная сила: Максимальная сила, генерируемая при попеременной стимуляции нервов и мышц, была получена при частоте 50 Гц и 80 Гц в течение 2 секунд, каждая из которых была разделена либо 2 (SOL), либо 5 (EDL) минутами.

Мышечная усталость: Протокол усталости представлен на Фигуре 4А. Протокол усталости был адаптирован для каждой мышцы из-за различий в их характерных свойствах. Для EDL усталость тестировали с использованием серии из 180 стимуляций нерва длительностью 300 мс, вызываемых с частотой 120 Гц. Период покоя между каждой стимуляцией составлял 700 мс, при общей продолжительности протокола 3 мин. Стимуляции мышц перекрывались со стимуляциями нерва каждые 10 стимуляций (18 одновременных нейромышечных стимуляций) для оценки мышечного резерва. Протокол усталости для SOL состоял из серии 300 стимуляций нерва длительностью 500 мс при 50 Гц, с периодом покоя 600 мс между стимуляциями, общей продолжительностью 5 мин 30. Стимуляции мышц перекрывались со стимуляциями нерва каждые 10 стимуляций (30

одновременных нейромышечных стимуляций).

Восстановление мышц: После каждого протокола усталости следовал 30-минутный период восстановления, в течение которого нейромышечную и нейромышечную+мышечную сократительную силу (120 Гц - 300 мс для EDL и 50 Гц - 500 мс для SOL) измеряли после протокола усталости через 5 с, 10 с, 15 с, 30 с, 45 с, 1 мин, 1,5 мин, 2 мин, 2,5 мин, 5 мин, 10 мин, 20 мин и 30 мин.

Масса мышц

После каждого эксперимента мышцы фиксировали (10 мин, ПФА) и промывали (3 промывки по 5 мин, PBS 1X). Затем оба сухожилия вырезали, и мышцы взвешивали и хранили при температуре 4°C для последующей обработки.

Статистический анализ

Результаты представлены как среднее значение \pm SEM, где количество животных обозначено как N (количество повторностей), а количество мышц обозначено как n (количество наблюдений). Однофакторный дисперсионный анализ с критерием Краскела-Уоллиса и t-критерий для множественных сравнений использовали в большинстве случаев, когда сравнивали три или четыре разные группы. Повторный однофакторный дисперсионный анализ с апостериорным критерием множественных сравнений Бонферрони использовали для сравнения значений, полученных с разными частотами или с течением времени у одних и тех же животных в разных группах. Уровень достоверности, используемый в исследовании, составлял 95% ($\alpha=0,05$). Все анализы проводили с использованием программы GraphPad 8 (Prism).

Пример 2: Результаты

Антитело ARGX-119 в комбинации с дарифенацином улучшает локомоторную функцию и силу захвата

Локомоторную функцию и общую силу животного тестировали, чтобы выяснить, может ли комбинация лечения антителом ARGX-119 и дарифенацином улучшать мышечную функцию.

Сначала измеряли двигательную активность, равновесие и координацию с помощью стандартного протокола ускорения на вращающемся стержне Rotarod (Фигура 1A), который, как известно, позволяет выявить двигательные нарушения при БАС по мере прогрессирования заболевания (34). На Фигуре 1B показано прогрессирующее снижение двигательной активности у мышей из группы, получавшей только ARGX-119, только дарифенацин или плацебо, что было обнаружено по более короткому периоду до падения с Rotarod, что показывает ожидаемое прогрессирование моторного фенотипа БАС. Однако двигательная активность у мышей, получавших комбинированное лечение антителом ARGX-119 и дарифенацином, была гораздо менее выраженной, что привело к значительному улучшению двигательной активности по сравнению с мышами, получавшими ARGX-119+ДМСО ($p<0,001$), PBS+дарифенацин ($p<0,0001$) и плацебо ($p<0,0001$) (Фигура 1B; ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, PBS+дарифенацин N=5, плацебо N=5, однофакторный дисперсионный анализ, критерий

Краскела-Уоллиса и t-критерий для множественных сравнений). Это особенно очевидно при приближении к конечной стадии, когда наблюдали значительно более высокий балл, полученный в возрасте P475 до P525, у мышей, получавших комбинированное лечение, по сравнению с группой плацебо. Действительно, на этой поздней симптоматической стадии большинство мышей, получавших плацебо, уже не могли бежать на вращающемся колесе, тогда как более половины мышей, получавших дарифенацин, все еще могли бежать. Интересно то, что наблюдалась тенденция к улучшению двигательной деятельности на Rotarod у мышей, получавших ARGX-119+ДМСО, в возрасте от P510 до P525 ($p=0,07$, $p=0,06$ и $p=0,053$ соответственно). Эти результаты продемонстрировали благоприятное воздействие комбинированного лечения по сравнению с другими монотерапиями и группой плацебо.

Затем измеряли силу захвата для оценки того, улучшало ли комбинированное лечение общую силу животных (Фигура 1С). Мыши во всех группах начали исследование с одинаковой силой захвата. Однако мыши, получавшие комбинированное лечение, показали лучшие результаты, чем мыши в группе плацебо, как показано большей силой захвата, полученной на P460 до конца доклинического исследования (Фигура 1D; ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, PBS+дарифенацин N=5, плацебо N=5, однофакторный дисперсионный анализ, $p<0,05$, критерий Тьюки и t-критерий для множественных сравнений). Интересно то, что на P507 у мышей, получавших PBS+дарифенацин, наблюдали значительное увеличение силы захвата по сравнению с группой плацебо.

На третьем этапе проверяли, оказывало ли комбинированное лечение антителом ARGX-119 с дарифенацином влияние на общее состояние мышей. С этой целью отслеживали изменения массы тела животных, показатель, который напрямую связан с прогрессированием заболевания и выживаемостью, при этом у животных наблюдается важная постепенная потеря массы тела после появления симптомов. Однако никакого различия между группами не наблюдали (ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, PBS+дарифенацин N=5, плацебо N=5, $p>0,05$, однофакторный дисперсионный анализ, критерий Тьюки и t-критерий для множественных сравнений).

Пример 2.1: Комбинированное лечение улучшает нейромышечную сократительную силу мышц и эффективность НМС

Улучшенные сократительные свойства мышц являются явными показателями того, что функции мышц и НМС также должны улучшаться в результате комбинированного лечения. Были исследованы две мышцы с разными свойствами и устойчивостью к заболеванию. EDL использовалась как быстро сокращающаяся утомляемая мышца, которая уязвима для заболевания, а SOL - как медленно сокращающаяся, устойчивая к утомлению мышца, которая также более устойчива к заболеванию. Для измерения силы, развиваемой мышцами при стимуляции моторного нерва и/или прямой стимуляции мышц, использовали датчик мышечной силы (см. Фигуру 2А). С помощью этой системы стимуляция моторного нерва с различными частотами вызывает сокращение мышц в

зависимости от эффективности НМС, отражая силу сократительных волокон, связанных только с иннервированными НМС. Стимуляция мышц, напротив, деполяризует все мышечные волокна и отражает максимальную силу сокращения всех мышц, независимо от статуса иннервации. Этот метод особенно полезен для исследования характеристик таких заболеваний, как БАС, демонстрирующего нарушения НМС и мышечные нарушения (35, 36).

Быстроутомляемая мышца EDL:

Сначала применяли стандартный протокол стимуляции для создания кривой силы-частоты (5 Гц-300 Гц) для определения эффективности НМС после длительного лечения ARGX-119 и дарифенацином. Мышечная сила, генерируемая сокращениями, вызванными стимуляцией моторного нерва и активацией НМС, была значительно выше, чем EDL в группе плацебо ($p < 0,001$) или группе ARGX-119+ДМСО ($p < 0,05$) во время протокола (Фигура 2B; ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, плацебо N=5; повторный однофакторный дисперсионный анализ, апостериорный критерий Бонферрони). Действительно, генерируемая сила сокращения составила $66,3 \pm 15,7$ мН для комбинированного лечения, $47,2 \pm 12,4$ мН для группы плацебо и $53,6 \pm 14,9$ мН для группы ARGX-119+ДМСО. Не наблюдали никакого значимого различия между группой антитела ARGX-119 и мышцами, получавшими плацебо.

Для прямой мышечной стимуляции значительные различия между мышцами, получавшими комбинированное лечение, и другими группами наблюдали с более высокими частотами (Фигура 2C). Группа, получавшая комбинированное лечение, показала значительно более высокую пиковую силу (мН) по сравнению с группой ARGX-119 и ДМСО ($p < 0,05$), а также группой плацебо ($p < 0,001$). Это указывает на сохранение свойств быстрого сокращения EDL (37, 38) (Фигура 2C, ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, плацебо N=5, повторный однофакторный дисперсионный анализ, апостериорный критерий Бонферрони и t-критерий для множественных сравнений). Интересно то, что такое увеличение сократительной силы также наблюдали с лучшим сохранением массы мышц EDL у животных, получавших комбинированное лечение, по сравнению с группой плацебо, как показано на Фигуре 2E.

Затем определяли процент мышечной производительности, которая используется нейромышечной системой при стимуляции нерва. Это было выражено как отношение сократительной способности. Это отношение составляет 100% у мышей дикого типа, что указывает на то, что нейронный контроль мышцы задействует 100% ее сократительной способности. Следовательно, если лечение улучшает иннервацию НМС, что приводит к увеличению генерируемой силы, то предполагается, что такое отношение должно быть выше в мышцах EDL у животных, получавших комбинированное лечение, по сравнению с другими группами. Как показано на Фигуре 2D, отношение было значительно выше для EDL у мышей ARGX-119+ДМСО с $61,1 \pm 1,0\%$ по сравнению с $52,3 \pm 1,8\%$ ($p < 0,001$) у мышей, получавших комбинированное лечение, и с $53,3 \pm 3,6\%$ ($p < 0,0001$) для группы плацебо (ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, плацебо N=5,

однофакторный дисперсионный анализ, критерий Краскела-Уоллиса).

Медленно сокращающаяся мышца SOL:

Далее применяли такой же протокол, но для мышцы SOL (Фигура 3). Группа, получавшая комбинированное лечение, продемонстрировала значительно более высокую силу сокращения, чем группа, получавшая ARGX-119+ДМСО ($p < 0,0001$) и группа плацебо ($p < 0,0001$) во время протокола стимуляции нервов (Фигура 3А; ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, плацебо N=5, повторный однофакторный дисперсионный анализ и t-критерий для множественных сравнений). Однако группа, получавшая ARGX-119+ДМСО, развивала меньшие усилия сокращения по сравнению с плацебо ($p < 0,05$). Генерируемая сила сокращения составила $114,5 \pm 3,5$ мН для комбинированного лечения, $83,1 \pm 4,5$ мН для группы плацебо и $64,6 \pm 5,1$ мН для группы ARGX-119+ДМСО. В случае прямой мышечной стимуляции группа комбинированного лечения снова продемонстрировала значительно более высокую силу сокращения ($140,6 \pm 2,1$ мН), чем группа, получавшая ARGX-119+ДМСО ($98,3 \pm 2,1$ мН; $p < 0,01$) и группа плацебо ($119,5 \pm 1,6$ мН; $p < 0,0001$) во время протокола стимуляции нервов (Фигура 3В; ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, плацебо N=5, повторный однофакторный дисперсионный анализ). Также наблюдали значимое различие между группой, получавшей ARGX-119+ДМСО, и группой плацебо ($p < 0,05$).

Отношение сократительной способности (Фигура 3С) было значительно выше у мышей, получавших комбинированное лечение, с $82,0 \pm 2,8\%$ по сравнению с $68,4 \pm 7,8\%$ для группы, получавшей ARGX-119 ($p < 0,0001$) и $56,1 \pm$ для контрольных мышей ($p < 0,0001$; ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, плацебо N=5, повторный однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA)). Интересно то, что это увеличение отношения сократительной силы и отношения сократительной способности наблюдали при лучшем сохранении веса мышц SOL у животных, получавших лечение. Действительно, мыши, получавшие ARGX-119+дарифенацин, лучше сохраняли мышечную массу по сравнению с группой плацебо ($p < 0,05$; ARGX-119+ДМСО N=5, ARGX-119+дарифенацин N=4, плацебо N=5, однофакторный дисперсионный анализ). Интересно то, что также наблюдали значимое различие группы, которой вводили ARGX-119+ДМСО, и группы плацебо ($p < 0,001$), где SOL из ARGX-119 демонстрировала лучшее отношение сократительной способности, чем плацебо.

В целом, эти результаты указывают, что комбинированное лечение улучшает мышечную и нейромышечную сократительную силу, а также мышечную массу для обеих мышц, но отношение сократительной способности было увеличено для EDL и SOL только в группе ARGX-119+ДМСО.

Пример 2.2: Антитело ARGX-119 в комбинации с дарифенацином сохраняет свойства усталости мышц

Помимо развиваемой силы, мышца также характеризуется своей устойчивостью к усталости. Например, быстро сокращающиеся мышцы, состоящие в основном из быстро утомляемых двигательных единиц, такие как EDL, демонстрируют более высокую

утомляемость по сравнению с медленно сокращающимися мышцами, такими как SOL (37). При БАС изменение типа иннервации (от быстрого к медленно сокращающемуся) и свойств самих мышц изменяет показатели усталости, делая их более устойчивыми. Поскольку лечение комбинированным ARGX-119+дарифенацином значительно сохраняло мышечную силу, далее исследовали устойчивость к усталости мышц EDL и SOL.

Использовали протокол стимуляции усталости с последующим 30-минутным периодом восстановления (см. Фиг. 4А). Мышцы EDL из группы, получавшей плацебо, показали нетипичную устойчивость к усталости при прямой стимуляции нерва. Однако, как показало замедленное восстановление, мышцы EDL мышей, получавших комбинацию ARGX-119+дарифенацина, показали уровень усталости, более типичный для этого типа быстро сокращающихся мышц (Фигура 4В; ARGX-119+дарифенацин N=4, ARGX-119+ДМСО N=5, плацебо N=5; $p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ, критерий Краскела-Уоллиса и t-критерий для множественных сравнений). Интересно то, что во время восстановления присутствовало значимое различие между группой лечения ARGX-119 и группой плацебо ($p < 0,05$), где мышца после лечения ARGX-119+ДМСО показала более типичную усталость. Это позволяет предполагать, что применение комбинированного лечения, а также монотерапии, такой как антитело ARGX-119, улучшало показатели мышц. Однако не было обнаружено никакого различия в скорости утомления и восстановления после нейромышечной стимуляции, когда задействованы все мышечные волокна (Фигура 4С; ARGX-119+дарифенацин N=4, ARGX-119+ДМСО N=5, плацебо N=5; $p > 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ, критерий Краскела-Уоллиса).

SOL - медленно сокращающаяся и устойчивая мышца, которая, как ожидается, также будет более устойчива к денервации, наблюдаемой при дегенеративных заболеваниях, по сравнению с быстро сокращающейся мышцей EDL, и будет восстанавливаться быстрее. В случае стимуляции нервов мышцы SOL группа плацебо показала более выраженную усталость, что было выявлено по более медленному восстановлению после усталости по сравнению с группой, получавшей ARGX-119+дарифенацин, что нетипично для этой устойчивой к усталости мышцы. Следовательно, комбинированное лечение восстанавливало свойства устойчивости к усталости мышцы SOL. (Фигура 4D-E; ARGX-119+дарифенацин N=4, ARGX-119+ДМСО N=5, Плацебо N=5; $p < 0,01$; однофакторный дисперсионный анализ, критерий Краскела-Уоллиса и t-критерий для множественных сравнений). В случае стимуляции нерва+мышцы наблюдали значимое различие между группами ARGX-119+дарифенацина и ARGX-119+ДМСО ($p < 0,001$) и группами ARGX-119+ДМСО и плацебо ($p < 0,0001$).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека.

2. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по п.1, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает последовательность Frizzled (Fz)-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 129.

3. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по п.1 или 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает константную Fc-область человеческого IgG дикого типа, включающую по меньшей мере 80% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 266 или 267.

4. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по любому из предыдущих пп., которое является антителом-агонистом против MuSK и/или имеет сниженную или устраненную эффекторную функцию.

5. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, предпочтительно для применения по любому из предыдущих пп., где сниженная или устраненная эффекторная функция получены в результате введения одной или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) в константной области SEQ ID NO: 266 или SEQ ID NO: 267 молекулы на основе антитела: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

6. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, предпочтительно для применения по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают константную Fc-область человеческого IgG дикого типа SEQ ID NO: 266 или 267, и где мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU, введены в указанную Fc-область.

7. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по любому из предыдущих пп., где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID

NO: 234 и

б) вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

8. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по любому из предыдущих пп., где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL):

где VH включает:

- аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

- аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 153, и

- аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1), и

где VL включает:

- аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

- аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

- аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

9. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по любому из предыдущих пп., где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL):

- где VH включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234, и VL включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235, и

- где VH включает:

о аминокислотную последовательность CDR-H1, включающую SEQ ID NO: 147 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 147,

о аминокислотную последовательность CDR-H2, включающую SEQ ID NO: 153 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO:

153, и

о аминокислотную последовательность CDR-H3, включающую SEQ ID NO: 156 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 156 (3B2g2m1) и

- где VL включает:

о аминокислотную последовательность CDR-L1, включающую SEQ ID NO: 159 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 159,

о аминокислотную последовательность CDR-L2, включающую SEQ ID NO: 172 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 172, и

о аминокислотную последовательность CDR-L3, включающую SEQ ID NO: 195 или имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных изменений по сравнению с SEQ ID NO: 195 (3B2g2m1).

10. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по любому из предыдущих пп., где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

- переменный домен тяжелой цепи (VH), включающий SEQ ID NO: 234, и

- переменный домен легкой цепи (VL), включающий SEQ ID NO: 235.

11. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), как идентифицировано в таблице 3, и/или CDR, как идентифицировано в таблице 1 или 2.

12. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, предпочтительно для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

- полную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 270, и полную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 271, или

- полную тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 268, и полную легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 269,

- где одна или больше следующих мутаций (все пронумерованы согласно системе нумерации EU) были введены в полную тяжелую цепь: замена N297A; замена N297Q; замена L234A; замена L234D; замена L234E; замена L234G; замена L234H; замена

L234F; замена L234K; замена L234Q; замена L234R; замена L234S; замена L234T; замена L235A; замена L235D; замена L235E; замена L235F; замена L235G; замена L235V; замена L235H; замена L235I; замена L235K; замена L235R; замена L235S; замена L235T; замена L235Q; замена L237A; замена S239D; замена E233P; замена L234V; делеция C236; замена G236E; замена G236R; замена G236K; замена G237A; замена P238A; замена F243L; замена D265A; замена S267E; замена H268A; замена R292P; замена Y300L; замена K322A; замена K322Q; замена A327Q; замена L328F; замена L328R; замена P329A; замена P329G; замена A330L; замена A330S; замена P331S; замена I332E; замена P396L; или каждая из комбинаций мутаций, описанных ранее в четвертом варианте осуществления данной заявки, предпочтительно мутации представляют собой L234A или L235A, более предпочтительно мутации представляют собой L234A и L235A.

13. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, предпочтительно для применения по п.12, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

- Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 270 и
- Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 271, и
- Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A,

пронумерованные согласно системе нумерации EU.

14. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, предпочтительно для применения по п.12, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

- а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268 и
- б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и
- с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A,

пронумерованные согласно системе нумерации EU.

15. Полинуклеотид для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, включающий нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-14, или его VH или VL, или CDR.

16. Вектор экспрессии для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, включающий полинуклеотид по п.15, предпочтительно функционально связанный с регуляторной областью, которая обеспечивает экспрессию антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или его VH или VL, или CDR в клетке-хозяине или бесклеточной системе экспрессии.

17. Клетка-хозяин или бесклеточная система экспрессии для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, содержащая вектор экспрессии по п.16.

18. Композиция для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека, включающая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, как определено в любом из пп.1-14, полинуклеотид, как определено в п.15, вектор экспрессии,

как определено в п.16, или клетка-хозяин или бесклеточная система экспрессии, как определено в п.17.

19. Композиция для применения при лечении нейромышечного нарушения у субъекта-человека по п.18, которая является фармацевтической композицией, включающей по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество.

20. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где антитело или антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетку-хозяина, бесклеточную систему экспрессии или композицию вводят в комбинации с антихолинергическим соединением.

21. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по п.20, где антихолинергическое соединение вводят отдельно, последовательно или одновременно.

22. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения согласно любому из п.20 или п.21, где антихолинергическое соединение является антагонистом мускариновых рецепторов, предпочтительно антагонистом мускариновых рецепторов, селективным в отношении мускаринового рецептора M1 и/или мускаринового рецептора M3 и/или мускаринового рецептора M5.

23. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из пп.22, где антагонист мускариновых рецепторов является селективным в отношении мускаринового рецептора M3, где антихолинергическим соединением предпочтительно является дарифенацин, ипратропия бромид, тиотропия бромид или троспий.

24. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где нейромышечное нарушение характеризуется сниженной нейромышечной передачей и/или денервацией в НМС (нейромышечном синапсе).

25. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где нейромышечное нарушение характеризуется по меньшей мере одним из следующего:

- a. повышенная возбудимость мускариновых рецепторов,
- b. гибель мотонейронов,
- c. денервация нейромышечного синапса (НМС) и

d. нарушение синаптической передачи.

26. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где нейромышечное нарушение выбрано из группы, состоящей из: бокового амиотрофического склероза (БАС), спинальной мышечной атрофии (СМА), миастении, врожденной миастении, миастенического синдрома Ламберта-Итона (LEMS), болезни Лайма, полиомиелита, постполиомиелитного синдрома, интоксикации тяжелыми металлами, синдрома Кеннеди, болезни Тея-Сакса взрослых, наследственной спастической параплегии, мультифокальной нейропатии, шейного спондилеза, экстрамедуллярной опухоли с компрессионной радикулопатией и миелопатией, миозита с тельцами включения, прогрессирующего бульбарного паралича, прогрессирующей мышечной атрофии, синдрома мотонейронов и тиреотоксической миопатии.

27. Антитело против MuSK или антигенсвязывающий фрагмент для применения по любому из пп.1-14 или любому из пп.15-26, если относится к любому из предыдущих пп.1-14, где нарушением является БАС.

28. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения при лечении БАС у субъекта-человека, где указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят бессимптомному субъекту-человеку, предпочтительно в течение 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев до начала болезни.

29. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, по п.28, где у бессимптомного субъекта-человека диагностирована предрасположенность к развитию нейромышечного нарушения или заболевания.

30. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по п.28 или п.29, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывают последовательность Frizzled (Fz)-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 129.

31. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по пп.28-30, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

с) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234 и

d) вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

32. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент для применения по любому из по пп.28-31, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

a) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268, и

b) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и

c) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A,

пронумерованные согласно системе нумерации EU.

33. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из пп.20-27, где антихолинергическое соединение вводят в начале болезни или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 недель после начала болезни.

34. Комбинация, включающая антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент и антихолинергическое соединение, предпочтительно для применения при лечении БАС у субъекта-человека.

35. Комбинация по п.34, где указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят бессимптомному субъекту-человеку, предпочтительно в течение 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев до начала болезни, и/или где антихолинергическое соединение вводят в начале болезни или в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 недель после начала болезни.

36. Комбинация по п.35, где у бессимптомного субъекта-человека, получавшего антитело, сначала диагностировали предрасположенность к развитию нейромышечного нарушения или заболевания.

37. Комбинация по пп.34-36, где антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент связывает последовательность Frizzled (Fz)-подобного домена MuSK SEQ ID NO: 129.

38. Комбинация по любому из пп.34-37, где антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент включает:

вариабельный домен тяжелой цепи (VH), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 234 и

вариабельный домен легкой цепи (VL), включающий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична или подобна SEQ ID NO: 235.

39. Комбинация по любому из по п.34-38, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает:

а) Полноразмерную тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 268, и

б) Полноразмерную легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 269, и

с) Где полноразмерная тяжелая цепь включает мутации L234A и L235A, пронумерованные согласно системе нумерации EU.

40. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, комбинация, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из пп.1-39, где антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, комбинацию, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетку-хозяина, бесклеточную систему экспрессии или композицию применены в начале болезни бессимптомному субъекту-человеку, предпочтительно в течение 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев до начала болезни.

41. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, комбинация,

полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по п.40, где начало болезни включает по меньшей мере один из симптомов, выбранных из группы, состоящей из: подергиваний мышц, мышечных судорог, спастичности, мышечной слабости, невнятной и/или гнусавой речи, затруднений при жевании или глотании, дисфагии, дизартрии и одышки.

42. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, комбинация, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где нейромышечное нарушение проанализировано путем электрофизиологического исследования или фармакодинамического исследования: в нейрофиламентах (например, легких цепей нейрофиламентов (НФЛ)) в сыворотке крови, плазме и/или спинномозговой жидкости (СМЖ); или образцах биопсии НМС.

43. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, комбинация, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где введение указанного антитела против MuSK или его антигенсвязывающего фрагмента, указанной комбинации, полинуклеотида, вектора экспрессии, клетки-хозяина, бесклеточной системы экспрессии или композиции указанному субъекту-человеку приводит к одному или больше следующим терапевтическим эффектам:

- увеличение числа или процента полностью иннервированных НМС у субъекта, сохранение числа или процента полностью иннервированных НМС у субъекта, уменьшение числа или процента полностью денервированных НМС у субъекта, повышение надежности синаптической передачи, предотвращение, стабилизация или снижение гибели мотонейронов у субъекта; и/или

- улучшение двигательной активности и/или силы захвата у субъекта; и/или

- улучшение сократительных свойств мышцы в НМС у субъекта; и/или

- улучшение устойчивости к усталости мышцы в НМС у субъекта; и/или

- индукция увеличения веса мышцы в НМС у субъекта; и/или

- улучшение качества жизни или задержка ухудшения качества жизни субъекта;

и/или

- снижение активности мускариновых рецепторов (или снижение гипервозбудимости мускариновых рецепторов) перисинаптических шванновских клеток (ПШК) у субъекта, или восстановление НМС у субъекта.

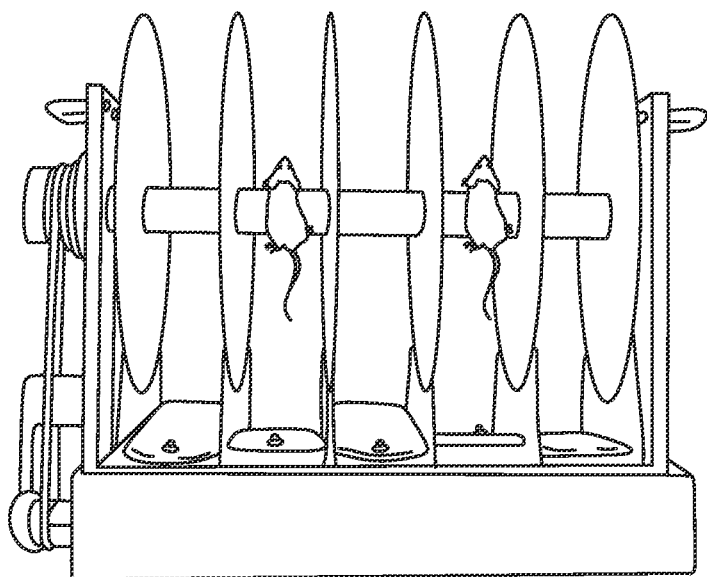
44. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, комбинация, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где указанное лечение приводит к стабилизации указанного нарушения.

45. Антитело против MuSK или его антигенсвязывающий фрагмент, комбинация, полинуклеотид, вектор экспрессии, клетка-хозяин, бесклеточная система экспрессии или композиция для применения по любому из предыдущих пп., где лечение нейромышечного

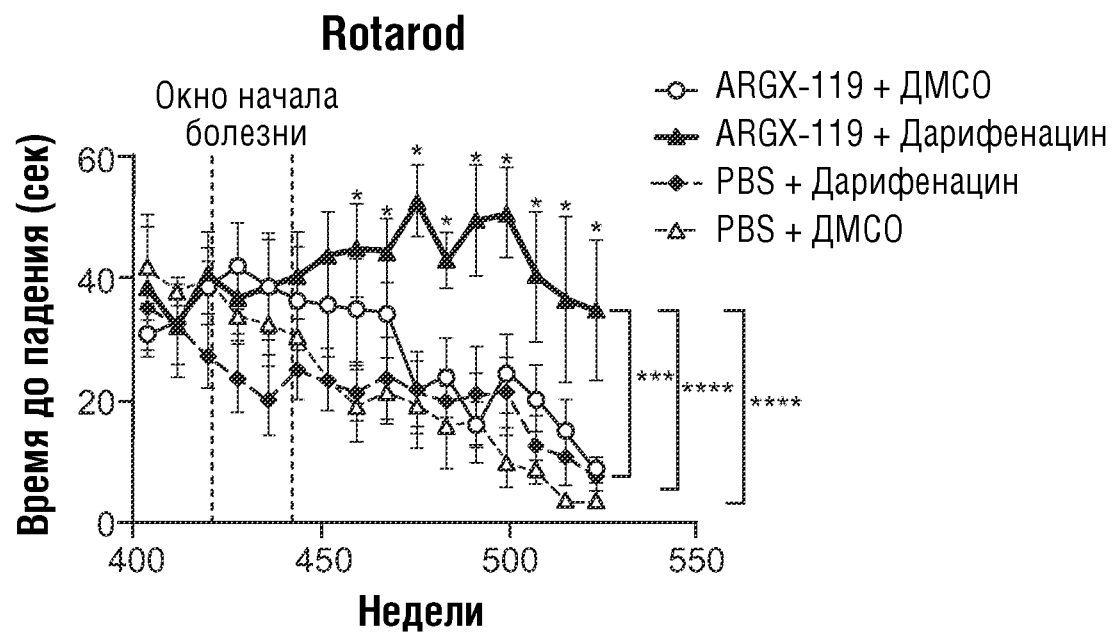
нарушения приводит к улучшению по сравнению с субъектом-человеком, не проходившим лечение антителом против MuSK или его антигенсвязывающим фрагментом, полинуклеотидом, вектором экспрессии, клеткой-хозяином, бесклеточной системой экспрессии или композицией согласно электрофизиологическому исследованию или фармакодинамическому исследованию; в нейрофиламентах (например, легкая цепь нейрофиламентов (НФЛ)) в сыворотке крови, плазме и/или спинномозговой жидкости (СМЖ); или в образцах биопсии НМС субъекта-человека после лечения.

По доверенности

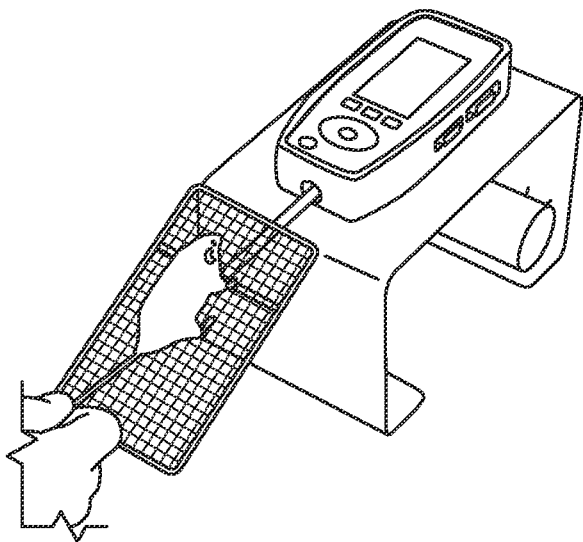
ФИГ.1А



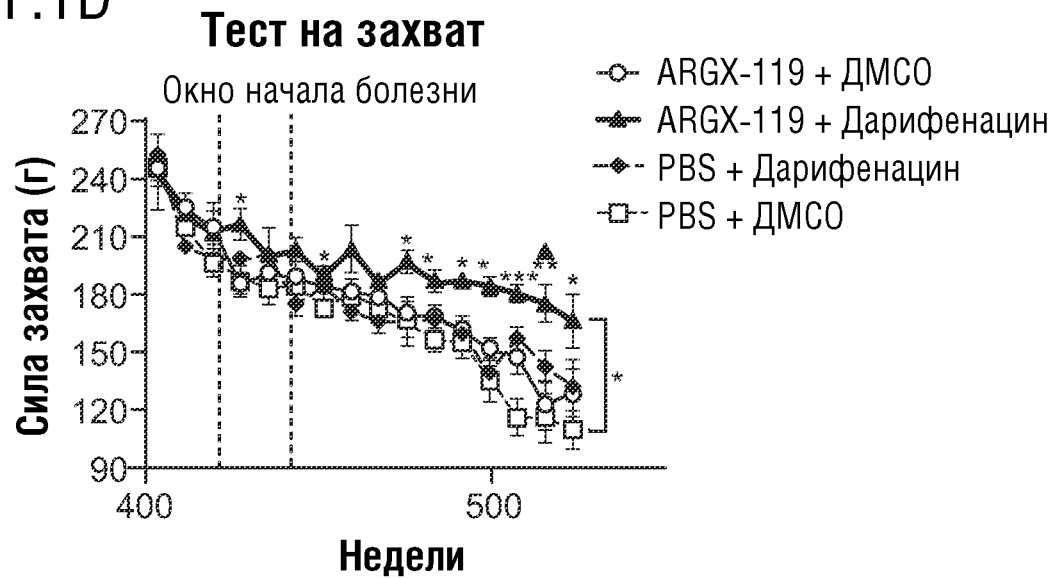
ФИГ.1В



ФИГ.1С

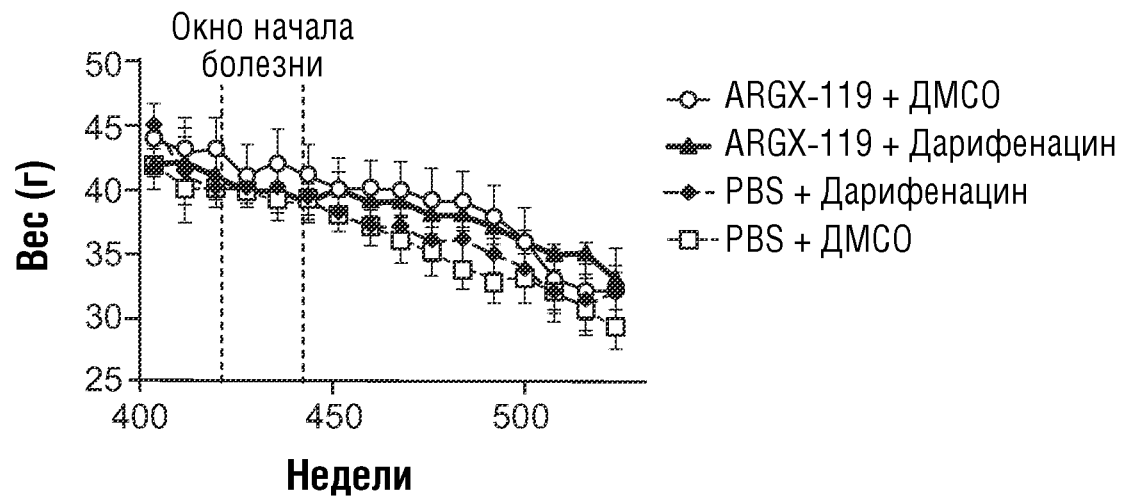


ФИГ.1D

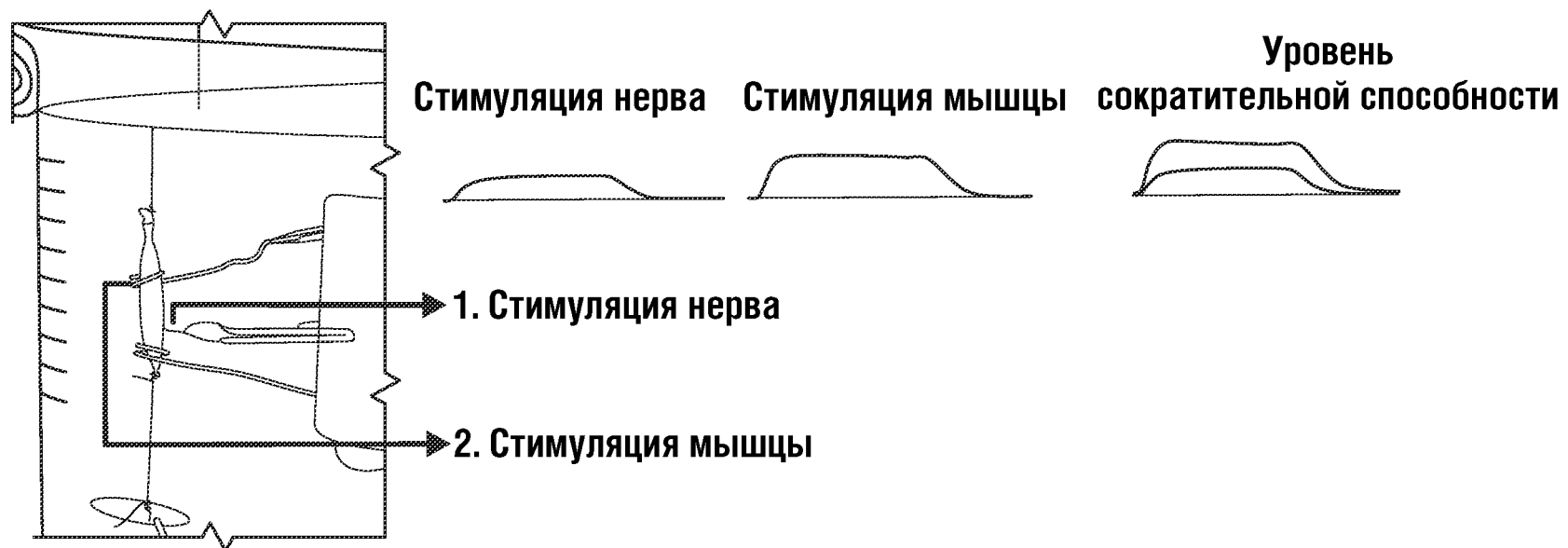


ФИГ.1E

Потеря веса

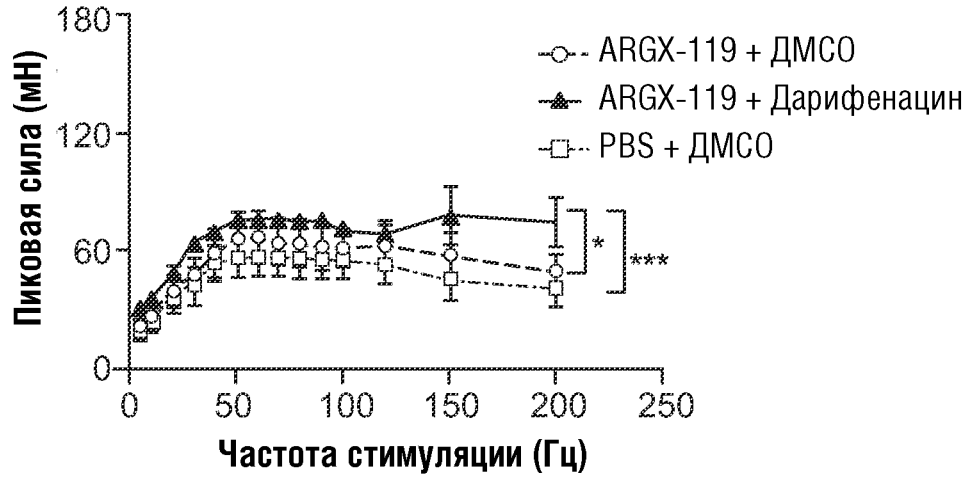


ФИГ.2А



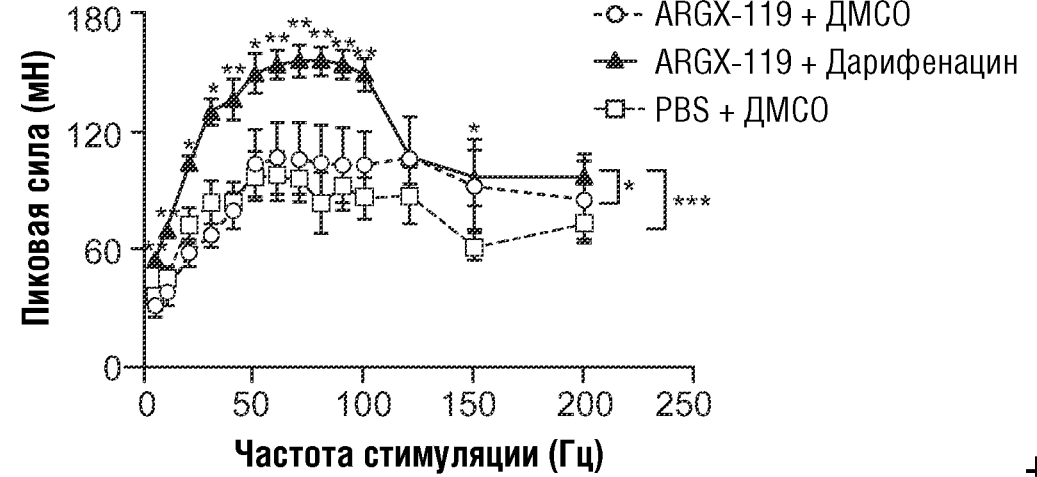
ФИГ.2В

Стимуляция нерва EDL



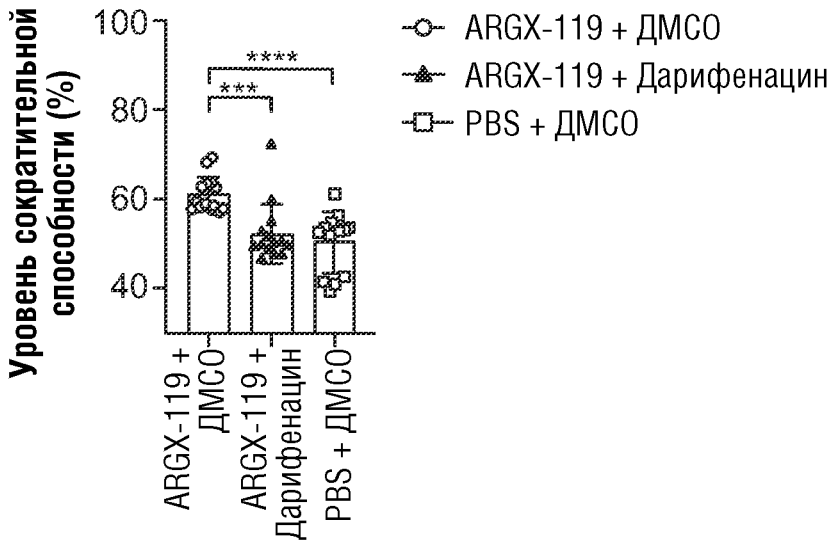
ФИГ.2С

Стимуляция мышцы EDL



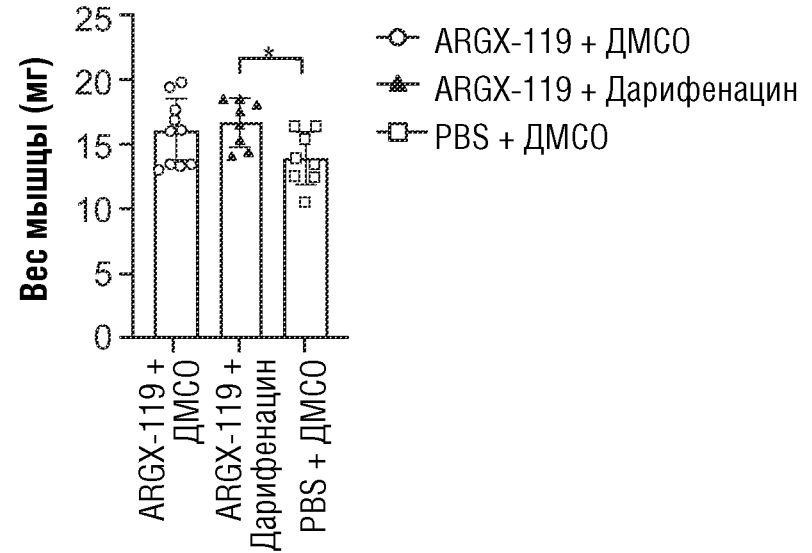
ФИГ.2D

Уровень сократительной способности EDL



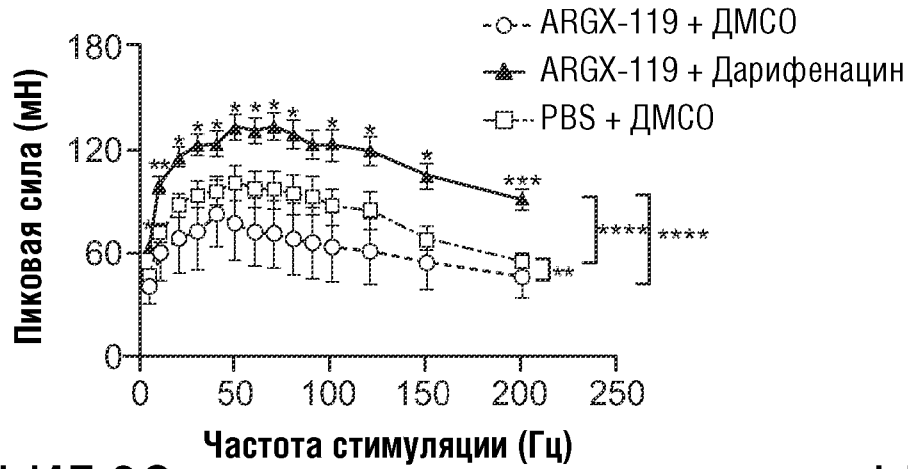
ФИГ.2Е

Вес мышцы EDL



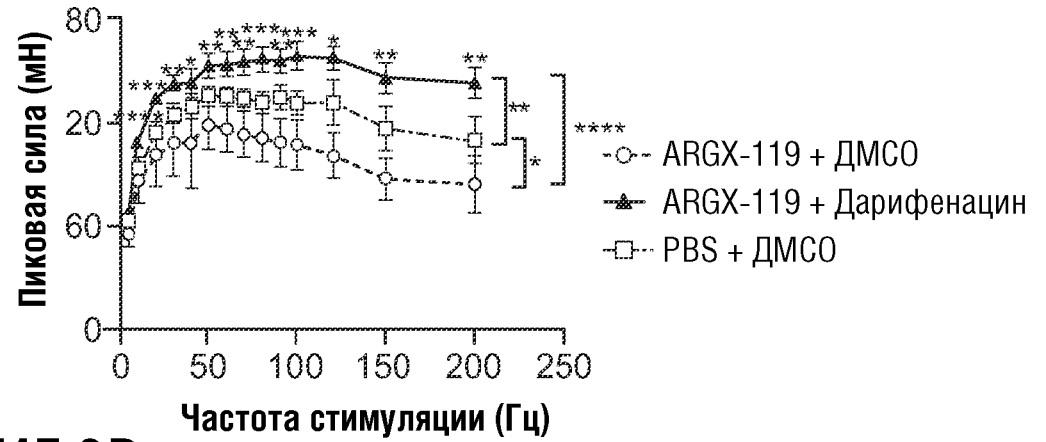
ФИГ.3А

Стимуляция нерва SOL



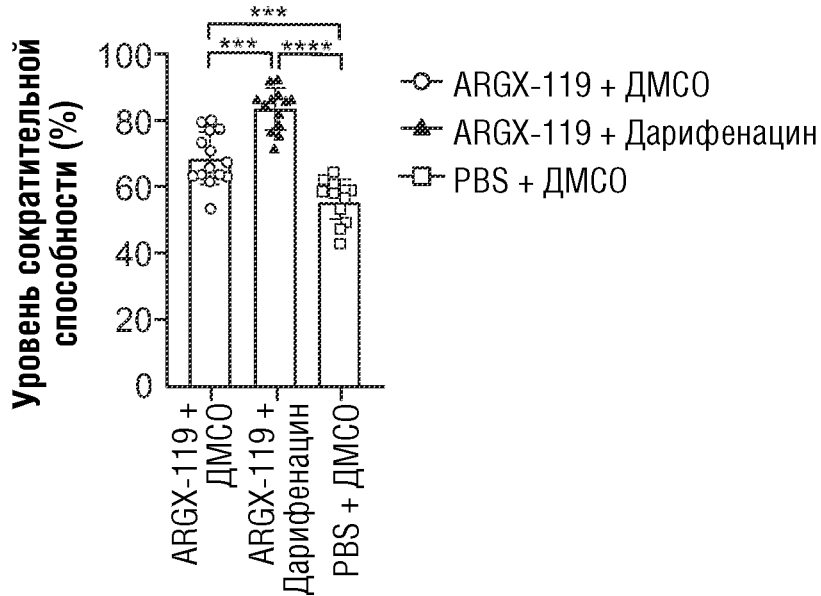
ФИГ.3В

Стимуляция нерва SOL



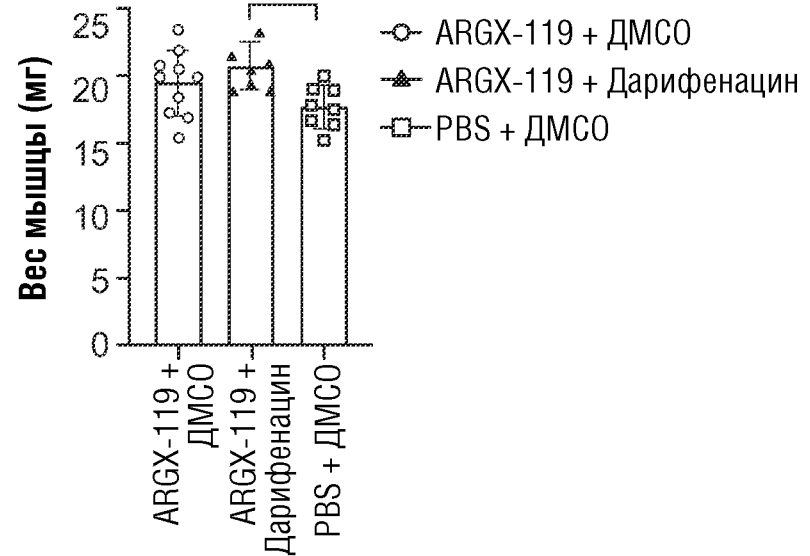
ФИГ.3С

Уровень сократительной способности SOL



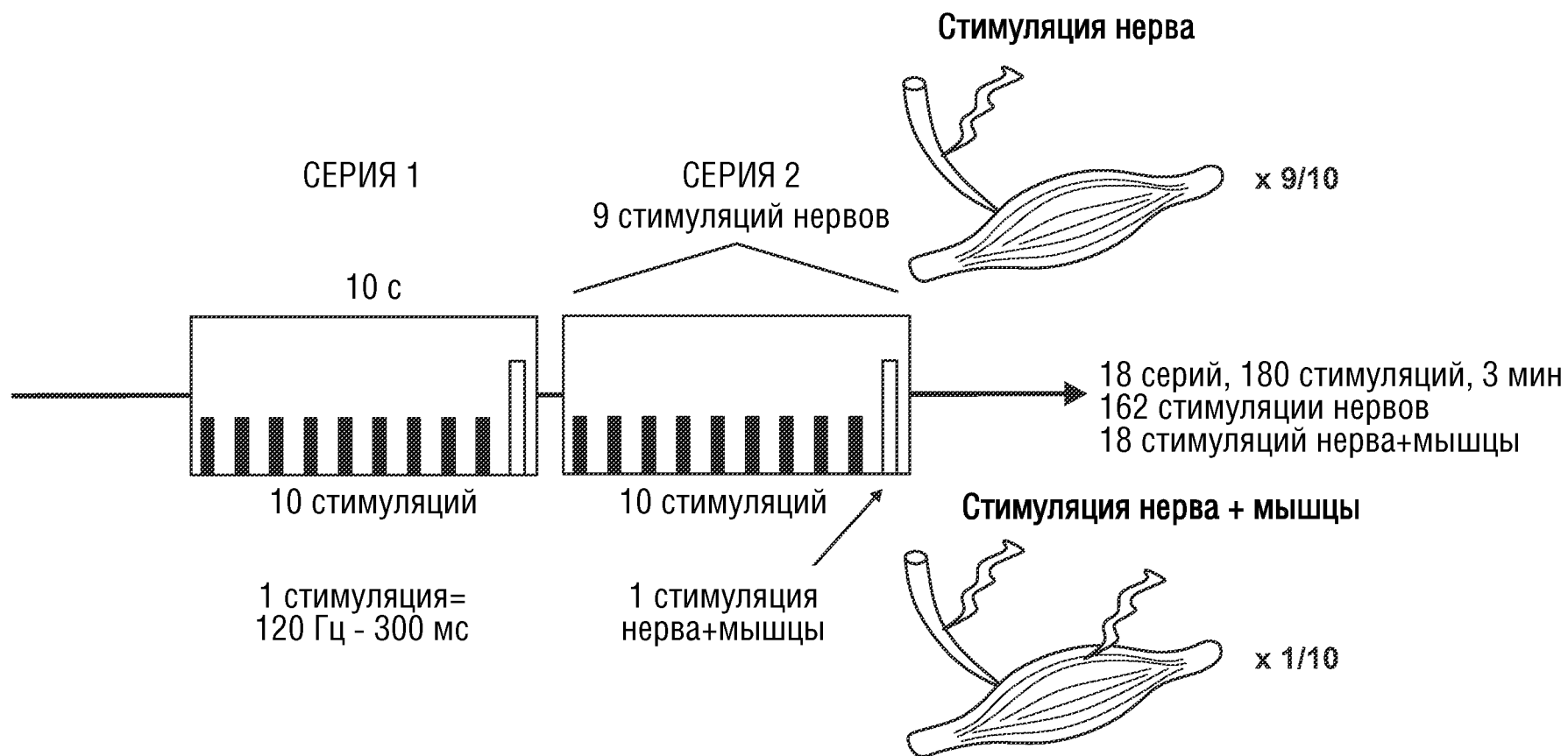
ФИГ.3Д

Вес мышцы SOL

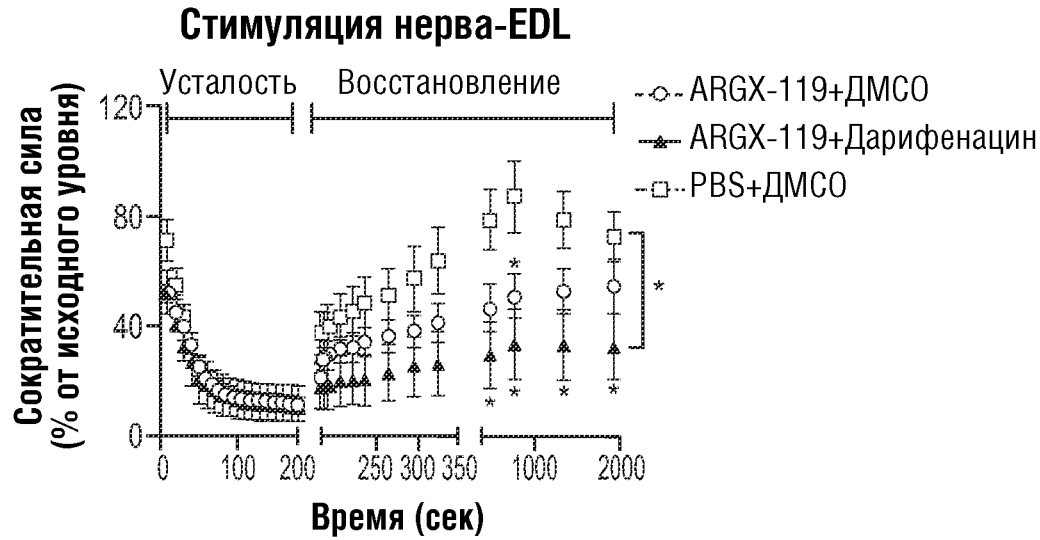


ФИГ.4А

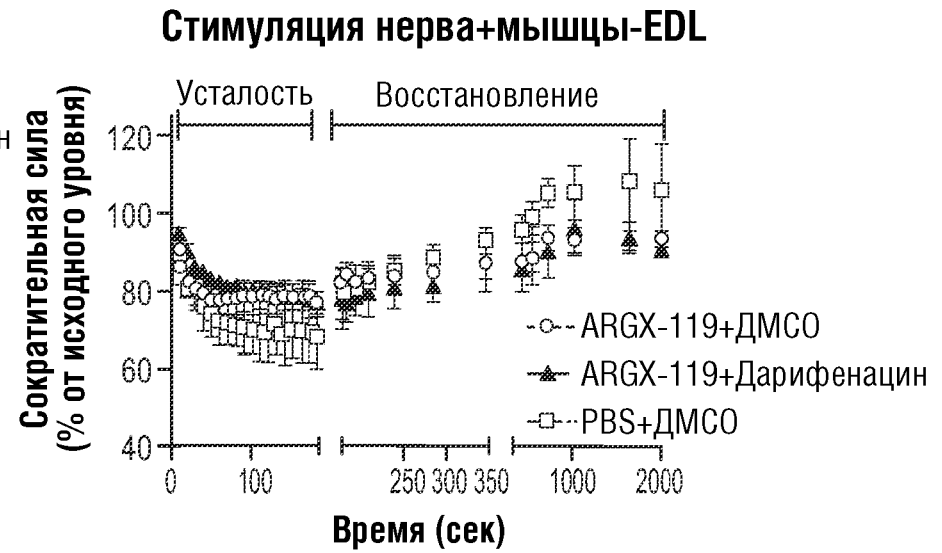
ПРОТОКОЛ ТЕСТА УСТАЛОСТИ



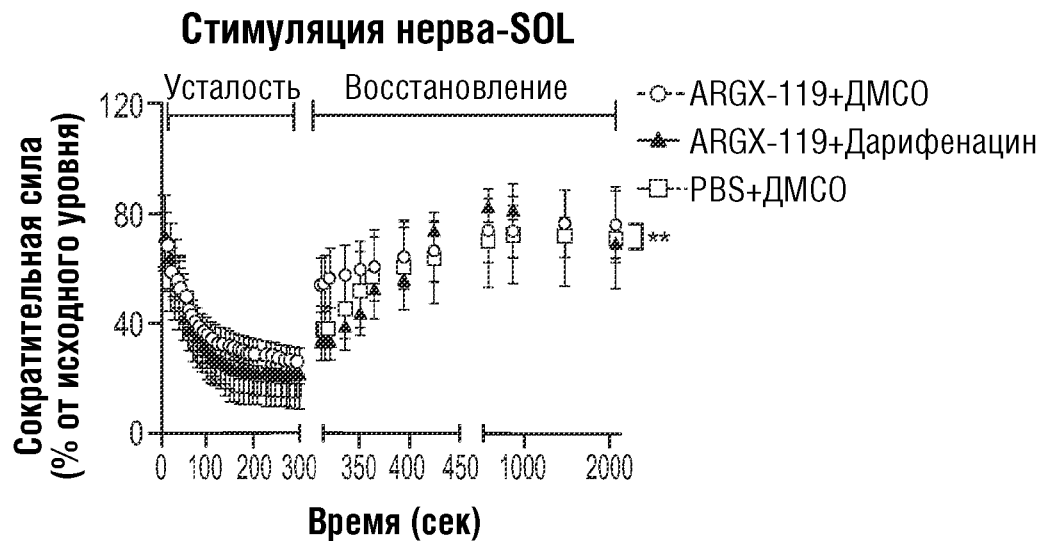
ФИГ.4В



ФИГ.4С



ФИГ.4D



ФИГ.4Е

