



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **129672** (13) **C2**
(51) МПК (2025.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 29/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2020 06898 (22) Дата подання заявки: 01.04.2019 (24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 03.07.2025 (31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/651,605 (32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 02.04.2018 (33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US (41) Публікація відомостей про заявку: 19.05.2021, Бюл.№ 20 (46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 02.07.2025, Бюл.№ 27 (86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2019/025100, 01.04.2019	(72) Винахідник(и): Пашіне Ахал (US), Госселін Майкл Л. (US), Ямнюк Аарон П. (US), Холмс Дерек А. (US), Чень Годун (US), Мадія Приянка Апурва (US), Хуан Річард Юй-Чен (US), Карл Стівен Майкл (US) (73) Володілець (володільці): БРИСТОЛЬ-МАЙЕРС СКВІББ КОМПАНІ, Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08543, United States of America (US) (74) Представник: Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139 (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2016/009086 A1, 21.01.2016 Different adaptations of IgG effector function in human and nonhuman primates and implications for therapeutic antibody treatment / M . WARNCKE et al. // The Journal Of Immunology, The American Association Of Immunologists, Inc, US. 2012. Vol. 188. No. 9. P. 4405-4411.
--	--

(54) АНТИТІЛО ДО TREM-1 ТА ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується антитіла, яке специфічно зв'язується з TREM-1 і інгібує передачу сигналу TREM-1, де антитіло не зв'язується з одним або декількома FcγR і не індукує продукування мієлоїдними клітинами прозапальних цитокінів. Винахід також стосується застосування такого антитіла в терапії, наприклад при лікуванні автоімунних захворювань.

UA 129672 C2

Посилання на перелік послідовностей, представлений в електронному вигляді на сайті EFS-WEB

Вміст представленого в електронному вигляді переліку послідовностей у вигляді текстового файлу в кодуванні ASCII [назва: 3338_092PC01_SeqListing.txt; розмір: 106162 байтів; і дата створення: 27 марта 2019 г.], сформованого при створенні заявки, повністю включений в даний опис як посилання.

Передумови створення винаходу

TREM-1 являє собою активуючий рецептор, який експресується на моноцитах, макрофагах і нейтрофілах. Ці клітини відіграють центральну роль при хронічних запальних захворюваннях, вивільняючи цитокіни та інші медіатори, які беруть участь в запаленні. мРНК TREM-1 і експресія білку піддаються підвищувальній регуляції у пацієнтів з ревматоїдним артритом (RA) і запальним захворюванням кишечника (IBD), і TREM-1-позитивні клітини накопичуються в місцях запалення, що корелює з серйозністю захворювання [див. Bouchon та ін., Nature 410, 2001, сс. 1103-1107; Schenk та ін., Clin Invest 117, 2007, сс. 3097-3106; і Kuai та ін., Rheumatology 48, 2009, сс. 1352-1358]. Пептидоглікан-розпізнавальний білок 1 (PGLYRP1), який експресується в основному активованими нейтрофілами, являє собою ліганд для TREM-1, і після зв'язування він опосередковує передачу сигналу TREM-1.

In vitro участь TREM-1 запускає секрецію прозапальних цитокінів, включаючи TNF, IL-8 і моноцитарний хемотаксичний білок-1. Крім того, передача сигналу TREM-1 синергетично взаємодіє з численними Толл-подібними рецепторами (TLR), додатково підсилюючи прозапальні сигнали. У свою чергу, це викликає підвищуючу регуляцію експресії TREM-1, приводячи до порочного циклу, який посилює запалення [див. Bouchon та ін., J Immunol 164, 2000, сс. 4991-4995]. Все зростаюча кількість даних свідчить про те, що TLR вносять внесок у виникнення та прогресування хронічних запальних захворювань, таких як RA і IBD.

Гуманізовані МАт до TREM-1, які інгібують функцію TREM-1 як людини, так і мавп циномогус, описані в різних документах [див. WO 2013/120553 A1 і WO 2016/009086 A1]. Однак зазначені антитіла або мають профіль в'язкості, який ускладнює процес продукування, або приводять до інших проблем, які можуть обмежувати їх терапевтичний потенціал (таких, наприклад, як цитокіновий шторм і ADCC) [див. Shire та ін., J. Pharm. Sci. 93, 2004, сс. 1390-1402; і Warncke та ін., J Immunol. 188, 2012, сс. 4405-4411]. Отже, існує необхідність в антитілах до TREM-1, які можуть специфічно зв'язуватися з TREM-1 і інгібувати його функцію, але не приводять до проблем, характерних для створених раніше антитіл до TREM-1.

Короткий виклад суті винаходу

У даному винаході представлені виділені антитіла, такі як моноклональні антитіла, перш за все людські (наприклад, моноклональні) антитіла, які специфічно зв'язуються з тригерним рецептором-1, який експресується на мієлоїдних клітинах (TREM-1), і які мають необхідні функціональні властивості. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL) і константну ділянку важкого ланцюга IgG1, де константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замінів в порівнянні з константною ділянкою важкого ланцюга IgG1 дикого типу (SEQ ID NO: 9). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло перехресно конкурує з mAb 0318 за зв'язування з TREM-1, блокуючи його, і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL) і константну ділянку важкого ланцюга IgG1, де константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замінів в порівнянні з константною ділянкою важкого ланцюга IgG1 дикого типу (SEQ ID NO: 9).

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з тим же самим епітопом TREM-1, що і mAb 0318. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло специфічно зв'язується з епітопом TREM-1, який містить один або декілька амінокислотних залишків, вибраних з групи, яка складається з D38, V39, K40, C41, D42, Y43, T44, L45, E46, K47, F48, A49, S50, S51, Q52, K53, A54, W55, Q56, Y90, H91, D92, H93, G94, L95 і L96 SEQ ID NO: 1. У деяких варіантах здійснення винаходу, антитіло специфічно зв'язується з епітопом TREM-1, який містить амінокислоти з D38 по L45, з E46 по Q56 і/або з Y90 по L96 з SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах здійснення винаходу константна ділянка важкого ланцюга IgG1, представленого в даному описі антитіла, містить одну або декілька амінокислотних замінів, вибраних з групи, яка складається з K214R, L234A, L235E, G237A, D356E і L358M (EU-нумерація). У деяких варіантах здійснення винаходу константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замінів, вибраних з групи, яка складається з K214R, L234A, L235E, G237A, A330S, P331S, D356E і L358M (EU-нумерація). У деяких варіантах здійснення винаходу константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька

амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація). У деяких варіантах здійснення винаходу константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з S131C, K133R, G137E, G138S, Q196K, I199T, N203D, K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація).

5 У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, містить CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга і CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга, де CDR3 важкого ланцюга містить DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26) або DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26) за винятком однієї або двох замін. У деяких варіантах здійснення винаходу CDR3 важкого ланцюга містить DQGIRRRQFAY (SEQ ID NO: 72).

10 У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, містить CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга і CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга, де CDR2 важкого ланцюга містить RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25) або RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25) за винятком однієї або двох замін.

15 У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, містить CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга і CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга, де CDR1 важкого ланцюга містить TYAMH (SEQ ID NO: 24) або TYAMH (SEQ ID NO: 24) за винятком однієї або двох замін.

20 У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, містить CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга і CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга, де CDR1 легкого ланцюга містить RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27) або RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27) за винятком однієї або двох замін. У деяких варіантах здійснення винаходу CDR2 легкого ланцюга містить RASNLES (SEQ ID NO: 28) або RASNLES (SEQ ID NO: 28) за винятком однієї або двох замін. У деяких варіантах здійснення винаходу CDR3 легкого ланцюга містить QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29) або QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29) за винятком однієї або двох замін.

25 У деяких варіантах здійснення винаходу VH антитіла, представленого в даному описі, містить амінокислотну послідовність, яка принаймні приблизно на 80 %, принаймні приблизно на 85 %, принаймні приблизно на 90 %, принаймні приблизно на 95 %, принаймні приблизно на 96 %, принаймні приблизно на 97 %, принаймні приблизно на 98 %, принаймні приблизно на 99 % або приблизно на 100 % ідентична амінокислотній послідовності, представленої в SEQ ID NO: 14. У деяких варіантах здійснення винаходу VL антитіла, представленого в даному описі, містить амінокислотну послідовність, яка принаймні приблизно на 80 %, принаймні приблизно на 85 %, принаймні приблизно на 90 %, принаймні приблизно на 95 %, принаймні приблизно на 96 %, принаймні приблизно на 97 %, принаймні приблизно на 98 %, принаймні приблизно на 99 % або приблизно на 100 % ідентична амінокислотній послідовності, представленої в SEQ ID NO: 15. У деяких варіантах здійснення винаходу VH і VL містять SEQ ID NO: 14 і SEQ ID NO: 15 відповідно.

30 У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52 або SEQ ID NO: 53. У деяких варіантах здійснення винаходу легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.

35 У даному винаході запропоноване виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з TREM-1, яке містить CDR1, CDR2, CDR3 важкого ланцюга; CDR1, CDR2, CDR3 легкого ланцюга; і константну ділянку важкого ланцюга IgG1, де CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга містять TYAMH (SEQ ID NO: 24), RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25) і DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26) відповідно; де CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга містять RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27), RASNLES (SEQ ID NO: 28) і QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29) відповідно; і де константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з L234A, L235E і G237A (EU-нумерація).

40 В даному винаході запропоноване виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з TREM-1, яке містить CDR1, CDR2, CDR3 важкого ланцюга; CDR1, CDR2, CDR3 легкого ланцюга; і константну ділянку важкого ланцюга IgG1, де CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга містять TYAMH (SEQ ID NO: 24), RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25) і DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26) відповідно; де CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга містять RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27), RASNLES (SEQ ID NO: 28) і QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29) відповідно; і де константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з L234A, L235E, G237A, A330S і P331S (EU-нумерація).

45 В даному винаході запропоноване виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з TREM-1, яке містить CDR1, CDR2, CDR3 важкого ланцюга; CDR1, CDR2, CDR3 легкого ланцюга; і константну ділянку важкого ланцюга IgG1, де CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга містять

TYAMH (SEQ ID NO: 24), RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25) і DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26) відповідно; де CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга містять RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27), RASNLES (SEQ ID NO: 28) і QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29) відповідно; і де константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація).

В даному винаході запропоноване виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з TREM-1, яке містить CDR1, CDR2, CDR3 важкого ланцюга; CDR1, CDR2, CDR3 легкого ланцюга; і константну ділянку важкого ланцюга IgG1, де CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга містять TYAMH (SEQ ID NO: 24), RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25) і DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26) відповідно; де CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга містять RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27), RASNLES (SEQ ID NO: 28), і QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29) відповідно; і де константна ділянка важкого ланцюга IgG1 містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з S131C, K133R, G137E, G138S, Q196K, I199T, N203D, K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація).

У деяких варіантах здійснення винаходу TREM-1 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 або SEQ ID NO: 7.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, має більш низьку афінність зв'язування з FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32), FcγRIIB (CD32), FcγRIIA (CD16a), FcγRIIB (CD16b) або з будь-якою їх комбінацією в порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло має афінність зв'язування з FcγRI (CD64), знижену принаймні в два рази, принаймні в три рази, принаймні в чотири рази, принаймні в п'ять разів, принаймні в шість разів, принаймні в сім разів, принаймні у вісім разів, принаймні в дев'ять разів або принаймні в 10 разів у порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, є менш імуногенним в порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло не має агоністичної дії щодо передачі сигналу TREM-1 після зв'язування з TREM-1 і за відсутності стимулятора. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло не індукуює експресію прозапального цитокіну в незрілих дендритних клітинах (iDC) при інкубації клітин у присутності антитіла і за відсутності стимулятора в порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, блокує продукування прозапального цитокіну в клітині при активації клітин в присутності, як антитіла, так і стимулятора. У деяких варіантах здійснення винаходу стимулятор являє собою ліганд для TREM-1. У деяких варіантах здійснення винаходу прозапальний цитокін вибирають з групи, яка складається з IL-6, TNF-α, IL-8, IL-1β, IL-12, хітаиназа-3-подібного білку 1 (CHI3L1) і їх комбінацій.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, запропоноване в даному винаході, зв'язується з людським FcRn, FcRn мавп циномогус і/або мишачим FcRn залежно від pH. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, має більш високу термостабільність у порівнянні з референс-антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54, за даними вимірювань за допомогою капілярного диференціального скануючого калориметра (CAP-DSC). У деяких варіантах здійснення винаходу при нагріві до 77°C стан приблизно від 10 до 20 %, приблизно від 20 до 30 % (наприклад, 24 %) або приблизно від 30 до 40 % антитіл є оборотним. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло має більш високу температуру плавлення (T_m) в порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло, представлене в даному описі, має в'язкість менше ніж 5 сП, менше ніж 4 сП, менше ніж 3 сП, менше ніж 2,5 сП, менше ніж 2,4 сП, менше ніж 2,3 сП, менше ніж 2,2 сП, менше ніж 2,1 сП, менше ніж 2 сП, менше ніж 1,9 сП, менше ніж 1,8 сП, менше ніж 1,7 сП, менше ніж 1,6 сП, менше ніж 1,5 сП, менше ніж 1,4 сП,

менше ніж 1,3 сП, менше ніж 1,2 сП, менше ніж 1,1 сП, менше ніж 1,0 сП, менше ніж 0,9 сП, менше ніж 0,8 сП, менше ніж 0,7 сП, менше ніж 0,6 сП, менше ніж 0,5 сП, менше ніж 0,4 сП, менше ніж 0,3 сП, менше ніж 0,2 сП або менше ніж 0,1 сП при концентрації 80 мг/мл. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло має в'язкість менше ніж 10 сП (наприклад, 9 сП) при концентрації 130 мг/мл.

У деяких варіантах здійснення винаходу зв'язування антитіла з людським TREM-1 характеризується величиною K_D , яка складає менше ніж 4 нМ (наприклад, 3,4 нМ), за даними вимірювань методом Біасоге. У деяких варіантах здійснення винаходу зв'язування антитіла з TREM-1 мавп циномолгус характеризується величиною K_D , яка складає менше ніж 1нМ (наприклад, 0,91 нМ), за даними вимірювань методом Біасоге.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло є мономірним за даними аналізу методом гель-фільтрації-рідинної хроматографії високої здатності (ГФ-РХВЗ). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло характеризується мінімальним ризиком фрагментації за даними аналізу за допомогою двовимірної рідинної хроматографії-тандемної мас-спектрометрії (2D-PX/MC) або аналізу маси інтактних білків за допомогою рідинної хроматографії-тандемної мас-спектрометрії (PX/MC). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло має ізоелектричну точку від 8 до 9 (наприклад, 8,75).

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло має стабільність у складі композиції, що містить гістидин, цукрозу, аргінін і NaCl. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зберігає стабільність протягом принаймні 2 місяців в складі композиції, яка містить 20мМ гістидин, 150мМ цукрозу, 25мМ аргінін і 50мМ NaCl. У деяких варіантах здійснення винаходу композиція має рН 6,0 і/або композицію зберігають при 4 °С, 25 °С або 40 °С.

У даному описі запропоновані також біспецифічні молекули, які містять антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, яке зчеплене з молекулою, яка має другу специфічність зв'язування.

У даному описі запропоновані нуклеїнові кислоти, що кодують антитіло, представлене в даному описі, вектори, які містять нуклеїнові кислоти, і клітини, трансформовані векторами.

У даному описі запропоновані імунокон'югати, які містять антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, які зчеплені з агентом.

У даному описі запропоновані композиції, які містять антитіла до TREM-1 або їх антигензв'язуючі фрагменти, біспецифічні молекули або імунокон'югати, представлені в даному описі, і носій. У даному описі запропоновані також набори, які містять антитіла до TREM-1 або їх антигензв'язуючі фрагменти, біспецифічні молекули або імунокон'югати, представлені в даному описі, і інструкції по їх застосуванню.

У даному описі запропонований спосіб інгібування активності TREM-1 у індивідуума, який потребує цього, що включає введення антитіла до TREM-1, біспецифічної молекули, нуклеїнової кислоти, вектора, клітини або імунокон'югата, зазначених у даному описі.

У даному описі запропонований спосіб лікування запального захворювання або автоімунного захворювання у індивідуума, який потребує цього, що включає введення антитіла до TREM-1, біспецифічної молекули, нуклеїнової кислоти, вектора, клітини або імунокон'югата, зазначених у даному описі. У деяких варіантах здійснення винаходу запальне захворювання або автоімунне захворювання вибирають з групи, що складається з запального захворювання кишечника (IBD), хвороби Крона (CD), неспецифічного виразкового коліту (UC), синдрому подразненого кишечника, ревматоїдного артриту (RA), псоріазу, псоріатичного артриту, системного червоного вовчак (SLE), вовчакового нефриту, васкуліту, сепсису, синдрому системної запальної відповіді (SIRS), діабету типу I, хвороби Грейвса, розсіяного склерозу (MS), автоімунного міокардиту, хвороби Кавасакі, захворювання коронарної артерії, хронічного обструктивного захворювання легень, інтерстиціального захворювання легень, автоімунного тиреоїдиту, склеродермії, системного склерозу, остеоартриту, атопічного дерматиту, вітіліго, реакції "трансплантат-проти хазяїна", синдрому Шегрена, автоімунного нефриту, синдрому Гудпасчера, хронічної запальної демієлінізуючої поліневропатії, алергії, астми, інших автоімунних захворювань, які є результатом або гострого, або хронічного запалення, і будь-якої їх комбінації. У деяких варіантах здійснення винаходу спосіб включає також введення одного або декількох додаткових терапевтичних засобів. У деяких варіантах здійснення винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою антитіло до IP-10 або антитіло до TNF- α .

Короткий опис креслень/фігур

На кресленнях показано:

на фіг. 1А і 1Б – дані, які демонструють, що всі варіанти mAb 0318 зв'язуються з TREM-1 людини і мавп циномолгус з афінністю, подібною до афінності вихідного антитіла mAb 0318 (IgG4). На фіг. 1А представлені дані про афінність зв'язування варіанту 318-IgG1.3f з TREM-1

людини (верхній ряд) і мавп циномолгус (нижній ряд). На фіг. 1Б представлені дані про афінність зв'язування декількох різних варіантів mAb 0318 з людським TREM-1. Різні представлені варіанти включають: (I) 318-IgG1.1f, (II) 318-IgG1.3f, (III) 318-IgG4-Aba, (IV) 318-IgG1-Aba і (V) 318-IgG1.1f (мутанти з заміною М на Q). На фіг. 1Б для цілей порівняння представлені дані про афінність зв'язування антитіла mAb 0318 (варіанти IgG4 A і B);

на фіг. 2А і 2Б – дані про інтерналізацію mAb 0318-IgG1.3f після зв'язування з TREM-1, що експресується на CD14⁺-моноцитах, в різні моменти часу після зв'язування з TREM-1. На фіг. 2А – результати аналізу експресії рецептора TREM-1 через 0, 6 і 24 год. після зв'язування. На фіг. 2Б – результати аналізу експресії рецептора TREM-1 через 0, 4 і 20 год. після зв'язування. На фіг. 2Б представлені також дані, одержані з використанням антитіла TREM26, яке не конкурує з варіантами антитіла 0318 за зв'язування з TREM-1. Антитіло TREM26 застосовували для оцінки "долі" рецептора TREM-1 після його інтерналізації (наприклад, чи піддається він деградації чи повертається назад на поверхню);

на фіг. 3 – демонстрація того, що варіанти mAb 0318 не мають агоністичного впливу на передачу сигналу TREM-1 за даними репортерного клітинного аналізу BWZ/hTREM-1, в якому репортерну лінію клітин інкубували разом ("обидві") або без CHO-CD32 ("тільки BWZ 36"). Представлені варіанти антитіл включали: (I) 318-IgG1.1f ("IgG1.1f"), (II) 318-IgG1.3f ("IgG1.3f"), (III) 318-IgG4-Aba ("FcAba-4"), (IV) 318-IgG1-Aba ("FcAba-1"). Антитіло MAB1278, яке є відомим агоністом передачі сигналу TREM-1, застосовували як антитіло, що служить позитивним контролем (див. вставку, виділену рамкою). Антитіло 5C8 (контроль ізотипу) застосовували як негативний контроль;

на фіг. 4 – дані про ефективність різних варіантів mAb 0318 щодо блокування опосередкованого TREM-1 продукування прозапальних цитокінів різними людськими клітинами. Варіанти антитіла mAb 0318, представлені на фіг. 4, інгібували опосередковане TREM-1 вивільнення прозапальних цитокінів (наприклад, TNF- α , IL-6 або IL-8) з різних типів людських клітин: РВМС, моноцитів, нейтрофілів і цільної крові після седиментації RBC (а саме, більшість еритроцитів видаляли згідно з протоколом осадження RBC з використанням декстрану згідно з процедурою, описаною в прикладах). Для продукування прозапальних цитокінів клітини стимулювали або іммобілізованим на планшеті PGRP1 і розчинним пептидогліканом, що не має TLR2-активності ("PGRP+PGN-Ecndss"), або стимульованими форбол-12-міристан-13-ацетатом (PMA) нейтрофілами, які експресують PGRP1 ("PMA-Stim Neutrophil Endogenous PGRP" (ендогенний PGRP стимульованих PMA нейтрофілів)). Представлені варіанти антитіл включали: (I) 0318-IgG4, (II) 0318-IgG1.3f, (III) 0318-IgG1.1f, (IV) 0318-IgG1-Aba і (V) 318-IgG4-Aba. "N/D" означає, що рівень експресії конкретного прозапального цитокіну не визначали;

на фіг. 5А і 5Б – дані про ефективність mAb 0318-IgG1.3f щодо блокади продукування IL-8 в цільній крові після стимуляції PGN із застосуванням або без застосування PGRP1 в присутності інгібітора NOD2. На фіг. 5А представлені дані про інгібування, отримані за допомогою фармакодинамічного аналізу цільної крові згідно з методом, описаним в прикладах. На фіг. 5Б представлені дані про інгібування, отримані за допомогою внутрішньоклітинного аналізу цитокінів в цільній крові згідно з методом, описаним в прикладах;

на фіг. 6А-В – рівні експресії РНК хітинази-3-подібного білку 1 ("CHI3L1") (фіг. 6А), IL-1 β (фіг. 6Б) і IL-6 (фіг. 6В) в цільній крові, стимульованій в присутності mAb 0318-IgG1.3f в різних концентраціях (0-1нМ). Цільну кров брали у трьох різних донорів (№ 126, № 290 і № 322) і стимулювали розчинним PGRP1 і розчинним пептидогліканом, який не має активності щодо TLR2 ("розчинний PGRP + розчинний PGN-Ecndss"). На кожній з фіг. 6А-6В представлені рівні експресії РНК (у-вісь) як у вигляді% інгібування (права колонка), так і у вигляді $\Delta\Delta Ct$ (різниця між рівнем референс-гена і рівнем гена в тестованому зразку) (ліва колонка). На х-осі наведені різні концентрації антитіла 0318-IgG1.3f;

на фіг. 7 – профіль в'язкості-концентрація двох варіантів антитіла 318-IgG1.1f (квадрати) і 318-IgG1.3f (кола). Визначення профілю в'язкості здійснювали на основі схеми розведення за допомогою динамічного віскозиметра Rheosense m-VROC з використанням 3-точкової розгортки зсувного зусилля для кожної точки при постійній температурі. Суцільна лінія являє собою криву, отриману шляхом нелінійної апроксимації даних методом найкращого підбору. Пунктирною лінією позначений максимально допустимий з точки зору ефективності рівень в'язкості;

на фіг. 8 – дані, які демонструють, що обидва варіанти антитіла 318-IgG1.1f і 318-IgG1.3f характеризувалися ризиком імуногенності від низького до помірного. Як позитивні контролю застосовували VL6 (імуногенне IL-21R mAb) і KLN (гемоціанін лімфи равлика). Як негативний контроль застосовували авастин;

на фіг. 9А і 9Б – дані, які демонструють, що всі варіанти mAb 0318 мають здатність

зв'язуватися з FcRn (людини (чорний колір), мавп циномолгус (білий колір) і мишей (сірий колір)) в залежності від pH. На фіг. 9A представлені дані про зв'язування з FcRn у вигляді % Rmax (максимальна здатність зв'язуватися з FcRn). На фіг. 9Б представлені дані про зв'язування з FcRn у вигляді сенсограмм. Представлені варіанти антитіла 0318 включають: (I) IgG1-Aba, (II) IgG4-Aba, (III) IgG1.1f і (IV) IgG1.3f. Для цілей порівняння представлені також дані для антитіла mAb 0318 (IgG4);

на фіг. 10A і 10Б – дані, які демонструють, що всі варіанти антитіла mAb 0318 характеризуються зниженою здатністю зв'язуватися з одним або декількома людськими FcγR (а саме, CD64, варіант CD32a-H131, варіант CD32a-R131, CD32b, варіант CD16a-V158 і варіант CD16B-NA2). На фіг. 10A представлені дані про афінність зв'язування у вигляді % Rmax (максимальна здатність зв'язуватися з FcγR). На фіг. 10Б представлені сенсограмми. Представлені варіанти антитіла 0318 включають: (I) IgG1-Aba, (II) IgG4-Aba, (III) IgG1.1f і (IV) IgG1.3f. Для цілей порівняння представлені дані для антитіла mAb 0318 (IgG4). Як контроль застосовували антитіло 1F4-hlgG1, щодо якого відомо, що воно зв'язується з декількома FcγR;

на фіг. 11A-11И – дані, які демонструють, що варіанти антитіла 0318 самі по собі (тобто за відсутності стимулу) не є агоністичними, про що свідчать результати вимірювань вивільнення різних прозапальних цитокінів (наприклад, IL-6, TNF-α і IL-12) при культивуванні з незрілими дендритними клітинами. На фіг. 11A, 11Б і 11В представлені кількості IL-6, продукowanego незрілими дендритними клітинами, виділеними з донорів D179, D276 і D341 відповідно. На фіг. 11Г, 11Д і 11Е представлені кількості TNF-α, продукowanego незрілими дендритними клітинами, виділеними з донорів D179, D276 і D341 відповідно. На фіг. 11Ж, 11З і 11И представлені кількості IL-12, продукowanego незрілими дендритними клітинами, виділеними з донорів D179, D276 і D341 відповідно. Представлені варіанти антитіла 0318 включають: (I) IgG1.1f, (II) IgG1.3f і (III) IgG1-Aba. У дужках вказані дози (мкг/мл) антитіл. Незрілі дендритні клітини культивували з варіантами антитіла до TREM-1 в присутності і за відсутності клітин CHO, які експресують на мембрані CD32a (для стимуляції перехресного зв'язування Fc). PGRP+PGN, тример CD40L ("Trimer") і агоністичне антитіло до CD40 фірми Pfizer ("CP870") застосовували як позитивні контролю. Як негативний контроль застосовували ізотипове антитіло ("CHIL-6"). Пунктирною лінією показана нижня межа виявлення аналізу;

на фіг. 12 – фармакокінетичні характеристики варіанту mAb 0318-IgG1.3f в організмі мавпи циномолгус після підшкірного введення одноразової дози. Кожній тварині вводили одну з наступних доз: (I) 0,1 мг/кг (n=4) ("1"), (II) 0,5 мг/кг (n=4) ("2"), (III) 2 мг/кг (n=3) ("3") або (IV) 10 мг/кг (n=4) ("4"). Дані представлені у вигляді середнього значення ± стандартне відхилення;

на фіг. 13 – схема мішень-опосередкованого розподілу лікарського засобу (TMDD), яка використовується для опису даних про фармакокінетику (ФК), фармакодинаміку (ФД) і окупацію рецептора (RO) у мавп циномолгус;

на фіг. 14A і 14Б – загальна щільність рецепторів TREM-1 на моноцитах (фіг. 14A) і гранулоцитах (фіг. 14Б) після введення мавпам (підшкірно (sc) або внутрішньовенно (iv)) одноразової дози варіанту mAb 0318-IgG1.3f циномолгус. Щільність рецепторів TREM-1 представлена у вигляді відсотка від щільності рецепторів TREM-1 до введення антитіла. Кожній з тварин вводили одну з наступних доз: (а) 0,1 мг/кг (sc) (n=4) ("А"), (б) 0,5 мг/кг (sc) (n=4) ("Б"), (в) 2 мг/кг (sc) (n=3) ("В"), (г) 2 мг/кг (iv) (n=3) ("Г") або (е) 10 мг/кг (sc) (n=4) ("Д"). Дані представлені у вигляді середнього значення ± стандартне відхилення;

на фіг. 15A і 15Б – дані про окупацію рецептора TREM-1 на моноцитах (фіг. 15A) і гранулоцитах (фіг. 15Б) після введення мавпам циномолгус одноразової дози варіанту mAb 0318-IgG1.3f. Дані про окупацію рецептора представлені у вигляді відсотка від загальної кількості експресованих на клітинах рецепторів TREM-1. Кожній тварині вводили одну з наступних доз: (а) 0,1 мг/кг (sc) (n=4) ("А"), (б) 0,5 мг/кг (sc) (n=4) ("Б"), (в) 2 мг/кг (sc) (n=3) ("В"), (г) 2 мг/кг (iv) (n=3) ("Г") або (д) 10 мг/кг (sc) (n=4) ("Д"). Дані представлені у вигляді середнього значення ± стандартного відхилення. Пунктирна лінія відповідає 85 %-ій окупації рецептора;

на фіг. 16A і 16Б – отримані експериментально (незафарбовані кола) і передбачені на основі моделі (суцільна лінія) результати оцінки ФК (верхня ліва панель), ФД (верхня права панель), RO (нижня ліва панель) і загального рівня експресії на поверхні рецептора TREM-1 (нижня права панель) після введення одноразової дози варіанту mAb 0318-IgG1.3f мавпам циномолгус, при цьому для теоретичної оцінки застосовували 2-компаратментну модель ФК з TMDD в центральному компартменті. На фіг. 16A представлені дані, отримані при підшкірному введенні кожній мавпі одноразової дози антитіла, що становить 0,1 мг/кг. На фіг. 16Б представлені дані, отримані при підшкірному введенні тваринам одноразової дози антитіла, що становить 10 мг/кг.

Детальний опис винаходу

Для полегшення розуміння даного опису спочатку дані визначення деяких понять. Додаткові

визначення наведені в тексті детального опису.

Слід розуміти, що вживання елемента в однині має на увазі його застосування і в множині; наприклад, слід розуміти, що поняття "нуклеотидна послідовність" означає одну або декілька нуклеотидних послідовностей. Таким чином, поняття "один" (або "декілька"), "один або більша кількість" і "принаймні один" можуть використовуватись як взаємозамінні в контексті даного опису.

Крім того, слід розуміти, що в контексті даного опису "і/або" стосується конкретно кожної/кожного з двох зазначених характеристик або компонентів в поєднанні один з одним або окремо. Так, слід мати на увазі, що поняття "і/або", що використовується в такому виразі як "А і/або В" в контексті даного опису включає "А і В", "А або В", "А" (окремо) і "В" (окремо). Аналогічно до цього, слід мати на увазі, що поняття "і/або", що використовується в такому виразі як "А, В і/або В" включає наступні варіанти: А, В і В; А, В або В; А або В; А або В; В або В; А і В; А і В; В і В; А (окремо); В (окремо) і В (окремо).

Слід розуміти, що якщо відносно будь-яких аспектів в даному описі вживається вираз "який містить", то він включає також аналогічні аспекти, описані в інший спосіб за допомогою понять "який складається з" і/або "який практично складається з".

Якщо не вказано інше, то всі технічні та наукові поняття, які використовуються в даному описі, мають значення, відоме звичайному спеціалісту в галузі, якої стосується даний винахід. Наприклад, [Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2-е вид., вид-во CRC Press, 2002; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3-е вид., вид-во Academic Press, 1999; і Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, доповнене видання, вид-во Oxford University Press, 2000] представляють широко відомі собою словники, в яких спеціаліст в даній галузі може знайти багато з понять, які використовуються в даному описі.

Одиниці, префікси і символи застосовують у формі, що відповідає Міжнародній системі одиниць (СІ). Чисельні діапазони включають числа, які визначають межі діапазону. Якщо не вказано інше, нуклеотидні послідовності написані зліва направо в 5'→3' орієнтації. Амінокислотні послідовності написані зліва направо в орієнтації від амінокінця до карбоксикінця. Заголовки, наведені в даному описі, не обмежують обсяг різних об'єктів винаходу, який визначається всією заявкою в цілому. Відповідно, поняття, визначені безпосередньо нижче в тексті, більш повно визначаються всією заявкою в цілому.

Поняття "приблизно" в контексті даного опису означає "приблизно", "грубо", "близько до того" або "в сфері цього". Коли поняття "приблизно" використовують стосовно числового діапазону, то воно модифікує вказаний діапазон шляхом розширення кордонів вище і нижче вказаних чисельних значень. В цілому, поняття "приблизно" може модифікувати чисельне значення в бік збільшення і зменшення зазначеного значення на різницю, що становить, наприклад, 10 %, вгору або вниз (вище або нижче).

Поняття "критичний рецептор 1, який експресується на мієлоїдних клітинах" (відомий також як TREM1, TREM1 і CD354), стосується рецептора, який експресується на моноцитах, макрофагах і нейтрофілах. Основним лігандом для TREM-1 є пептидоглікан-розпізнаючий білок 1 (PGLYRP1), який стосується сімейства пептидоглікан (PGN)-зв'язуючих білків (PGRP). Після активації TREM-1 вступає в асоціацію з ITAM-вмісним сигнальним адапторним білком, DAP12. Передача сигналу в прямому напрямку може включати активацію фактора транскрипції NFAT, викликаючи підвищуючу регуляцію продукування прозапальних цитокінів. Поняття "TREM-1" включає будь-які варіанти або ізоформи TREM-1, які в природних умовах експресуються клітинами. Отже, у деяких варіантах здійснення винаходу антитіла, представлені в даному описі, можуть перехресно взаємодіяти з TREM-1 з видів, відмінних від людини (наприклад, з TREM-1 мавп циномогус).

Ідентифіковано три ізоформи TREM-1. Ізоформа 1 (реєстраційний номер NP_061113.1; SEQ ID NO: 1) складається з 234 амінокислот і являє собою канонічну послідовність. Ізоформа 2 (реєстраційний номер NP_001229518.1; SEQ ID NO: 2) складається з 225 амінокислот і відрізняється від канонічної послідовності амінокислотними залишками 201-234. Амінокислотні залишки кодують частину трансмембранного домену та цитоплазматичний домен. Ізоформа 3 (реєстраційний номер NP_001229519; SEQ ID NO: 3) складається з 150 амінокислот і є розчинною. У ній відсутні амінокислотні залишки 151-234, які кодують трансмембранний домен, цитоплазматичний домен і частину позаклітинного домену. Амінокислотні залишки 138-150 також відрізняються від описаної вище канонічної послідовності.

Нижче представлені амінокислотні послідовності трьох відомих ізоформ людського TREM-1.

(А) Ізоформа 1 людського TREM-1 (реєстраційний номер NP_061113.1; SEQ ID NO: 1; кодується нуклеотидною послідовністю, яка має реєстраційний номер NM_018643; SEQ ID NO: 4):

MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLVDKCDYTLKFASSQKAWQIIRDGEMP
KTLACTERPSKNSHPVQVGRILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLV
VTKGFSGTPGSNENSTQNVYKIPPTTTKALCPLYTSPRTVTQAPPKSTADVSTPDSEINLTNVTDIIRVP
VFNIVILLAGGFLSKSLVFSVLFVAVTLRSFVP (сигнальна послідовність підкреслена);

- 5 (Б) Ізоформа 2 людського TREM-1 (реєстраційний номер NP_001229518.1; SEQ ID NO: 2; кодується нуклеотидною послідовністю, яка має реєстраційний номер NM_001242589; SEQ ID NO: 5):

MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLVDKCDYTLKFASSQKAWQIIRDGEMP
KTLACTERPSKNSHPVQVGRILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLV
10 VTKGFSGTPGSNENSTQNVYKIPPTTTKALCPLYTSPRTVTQAPPKSTADVSTPDSEINLTNVTDIIRYS
FQVPGPLVWTLSPFLPSLCAERM (сигнальна послідовність підкреслена);

(В) Ізоформа 3 людського TREM-1 (реєстраційний номер NP_001229519; SEQ ID NO: 3; кодується нуклеотидною послідовністю, яка має реєстраційний номер NM_001242590; SEQ ID NO: 6):

15 MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLVDKCDYTLKFASSQKAWQIIRDGEMP
KTLACTERPSKNSHPVQVGRILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLV
VTKGFRCTLSFSWLVD (сигнальна послідовність підкреслена).

Передбачено, що білок TREM-1 мавп циномолгус (реєстраційний номер XP_001082517; SEQ ID NO: 7) повинен мати наступну амінокислотну послідовність:

20 MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATTELTEEKYEYKEGQTLVKCDYALEKYANSRKAWQKMEGKMP
KILACTERPSENSHPVQVGRITLEDYPDHGLLQVQMTNLQVEDSGLYQCVIYQHHPKESHVLFNPICLV
VTKGSSGTPGSSENSTQNVYRTPSTTAKALGPRTYSPRTVTQAPPESTVVVSTPGSEINLTNVTDIIRV
PVFNIVIVAGGFLSKSLVFSVLFVAVTLRSFGP (сигнальна послідовність підкреслена).

- 25 Дана заявка стосується антитіл, які специфічно зв'язуються і блокують функцію TREM-1. Антитіла блокують функцію TREM-1 шляхом зниження / блокади активації TREM-1 і передачі сигналу в прямому напрямку.

Антитіла до TREM-1, запропоновані в даному описі, блокують передачу сигналу TREM-1 за допомогою одного або комбінації декількох різних механізмів, блокуючи TREM-1 безпосередньо або побічно. В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла перешкоджають природному ліганду для TREM-1, пептидоглікан-розпізнаючому белку 1 (PGLYRP1), створювати функціональний комплекс з TREM-1. В іншому варіанті здійснення винаходу антитіла блокують TREM-1, перешкоджаючи окремим молекулам TREM-1 формувати димери або мультимери. У деяких варіантах здійснення винаходу зниження або попередження димеризації або мультимеризації TREM-1 обумовлено антитілами до TREM-1, які мають здатність зв'язуватися з частиною TREM-1, яка в іншому випадку була б на поверхні поділу в димері TREM-1, попереджаючи тим самим асоціацію окремих молекул TREM-1 одна з одною. В інших варіантах здійснення винаходу зниження або попередження димеризації або мультимеризації TREM-1 обумовлено антитілами до TREM-1, які перешкоджають взаємодії TREM-1 з його лігандом.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 можуть блокувати індуковану 40 PGLYRP1 активацію TREM-1. PGLYRP1, що представляє собою висококонсервативний білок, який містить 196 амінокислот, який складається з сигнального пептиду і пептидоглікан-зв'язуючого домену, експресується на нейтрофілах і вивільняється після їх активації. Нижче представлена амінокислотна послідовність PGLYRP1 (реєстраційний номер NP_005082.1; SEQ ID NO: 8):

45 MSRRSMLLAWALPSLLRLGAAQETEDPACCSPVPRNEWKALASECAQHLSLPLRYVVVSHTAG
SSCNTPASCQQQARNVQHYHMKTLGWCDVGYNFLIGEDGLVYEGRGWNFTGAHSGHLWNPMISIGI
SFMGNYMDRVPTPQAIRAAQGLLACGVAQGALRSNYVLKGHRDVQRTLSPGNQLYHLIQNWPHYRS
P (сигнальна послідовність підкреслена).

Таким чином, у деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в 50 даній заявці, здійснюють знижуючу регуляцію або блокують вивільнення прозапальних цитокінів з мієлоїдних клітин (наприклад, дендритних клітин і моноцитів). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 блокують вивільнення TNF- α , MIP-1-бета, MCP-1, IL-1-бета, GM-CSF, IL-6 і/або IL-8 з макрофагів, нейтрофілів, клітин синовіальної тканини і/або репортерної клітини, що продемонстровано в даному описі.

55 Хоча контрольоване вивільнення прозапальних цитокінів у відповідь на чужі антигени може бути сприятливим (наприклад, викликати ефективну адаптивну імунну відповідь), надлишкове вивільнення прозапальних цитокінів може мати важкі наслідки. Наприклад, одним із загальних і токсичних ускладнень, які спостерігалися при введенні in vivo визначених антитіл проти імунних рецепторів на поверхні імунних клітин (наприклад, антитіл до людського CD3, таких як OKT3), є синдром вивільнення цитокінів (CRS), який асоційований з надмірним вивільненням різних 60

цитокінів (наприклад, TNF-альфа, IFN-гама і IL-2) в кровотік. CRS може виникати в результаті одночасного зв'язування антитіл з їх когнатним антигеном (наприклад, CD3 на Т-клітинах) (за допомогою варіабельної ділянки антитіла) і Fc-рецепторами (наприклад, FcγR) і/або рецепторами комплементу (за допомогою константної ділянки антитіла) на допоміжних клітинах (наприклад, на антигенпрезентуючих клітинах). Така взаємодія призводить до активації клітин (наприклад, Т-клітин і/або допоміжних клітин) і вивільненню різних цитокінів, які викликають системну запальну відповідь, що характеризується гіпотензією, гіпотермією і ознобом. Інші симптоми CRS включають лихоманку, озноб, нудоту, блювоту і задишку.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, крім блокади індукованого PGLYRP1 продукування прозапальних цитокінів приводять до зниження кількості випадків або до усунення випадків виникнення синдрому вивільнення цитокінів після введення індивідууму, який цього потребує. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 не індукують експресію прозапальних цитокінів клітинами (наприклад, дендритними клітинами), коли клітини інкубують в присутності тільки антитіла, в порівнянні з антигілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 мають знижену здатність зв'язуватися з одним або декількома FcγR, що сприяє зниженню кількості виникнення випадків CSR.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, запропоновані в даному винаході, зв'язуються і з людським TREM-1, і з TREM-1 з інших видів. Таким чином, в контексті даного опису поняття "TREM-1", включає будь-яку форму TREM-1, яка зустрічається в природних умовах і яка може мати походження з будь-якого придатного організму. Наприклад, TREM-1, придатний для застосування відповідно до даного опису, може являти собою TREM-1 хребетного, такий як TREM-1 ссавця, такий як TREM-1 примату (такого як людина, шимпанзе, мавпа циномогус або макак-резус); гризуна (такого як миша або пацюк), лагоморфа (такого як кролик) або парнокопитного (такого як корова, вівця, свиня або верблюд). У деяких варіантах здійснення винаходу TREM-1 має послідовність SEQ ID NO: 1 (людський TREM-1, ізоформа 1). TREM-1 може являти собою зрілу форму TREM-1, таку як білок TREM-1, який був підданий посттрансляційному процесингу у відповідній клітині. Такий зрілий білок TREM-1 може, наприклад, бути глікозилізованим. TREM-1 може являти собою повнорозмірний білок TREM-1

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, запропоновані в даному винаході, являють собою моноклональні антитіла в тому сенсі, що вони одержані безпосередньо або непрямим шляхом з одного клону В-лімфоциту. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 одержують, піддають скринінгу і очищають за допомогою методів, наприклад, описаних в розділі "Приклади" публікації міжнародної заявки на патент WO 2013/120553. В цілому, метод полягає в наступному: придатну мишу, таку як миша з "вимкненням" (knock-out (KO)) TREM-1 або TREM-1/TREM-3, імунізують TREM-1, клітиною, що експресує TREM-1 або їх комбінацією. В іншому варіанті здійснення винаходу антитіла до TREM-1 являють собою поліклональні антитіла в тому сенсі, що вони є сумішшю моноклональних антитіл, представлених в даному описі.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, рекомбінантно експресуються в прокаріотичних або еукаріотичних клітинах. У деяких варіантах здійснення винаходу прокаріотична клітина являє собою *E. coli*. У конкретних варіантах здійснення винаходу еукаріотична клітина являє собою клітину дріжджів, комахи або ссавця, таку як клітина, одержана з організму, який є приматом (таким як людина, шимпанзе, мавпа циномогус або макак-резус); гризуном (таким як миша або пацюк), лагоморфом (таким як кролик) або парнокопитним (таким як корова, вівця, свиня або верблюд). Придатними лініями клітин ссавців є (але не обмежуючись тільки ними) клітини HEK293, клітини CHO і клітини HELA. Антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можна одержувати також за допомогою інших методів, відомих спеціалісту в даній галузі, таких як фаговий дисплей або дріжджовий дисплей. Після одержання антитіла можна піддавати скринінгу відносно зв'язування, наприклад, з повнорозмірним TREM-1 або його мутантами за допомогою методів, описаних в розділі "Приклади" публікації міжнародної заявки на патент [WO 2013/120553].

Поняття "антитіло" в контексті даного опису стосується білку, одержаного з послідовності зародкової лінії імуноглобуліну, який має здатність специфічно зв'язуватися з антигеном (TREM-1) або його частиною. Поняття включає повнорозмірні антитіла класу або підкласу (а саме, IgA, IgE, IgG, IgM і/або IgY) і будь-які одноланцюгові антитіла або фрагменти. Антитіло, яке специфічно зв'язується з антигеном або його частиною, може зв'язуватися тільки з зазначеним антигеном або його частиною або воно може зв'язуватися з обмеженим числом гомологічних

антигенів або їх частин. Повнорозмірні антитіла, як правило, містять принаймні чотири поліпептидні ланцюга: два важких (H) ланцюга і два легких (L) ланцюга, які з'єднані один з одним дисульфідними зв'язками. Одним з підкласів імуноглобулінів, які представляють фармацевтичний інтерес, є сімейство IgG. У людини клас IgG може бути поділений на 4 підкласи: IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4 на основі послідовностей константних ділянок їх важких ланцюгів. Легкі ланцюги можуть бути поділені на типи каппа і лямбда, на основі відмінностей в складі їх послідовностей. Молекули IgG складаються з двох важких ланцюгів, зчеплених один з одним двома або більшою кількістю дисульфідних зв'язків, і двох легких ланцюгів, кожен з яких приєднаний до важкого ланцюга дисульфідним зв'язком. Важкий ланцюг може містити варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH) і аж до трьох константних ділянок важкого ланцюга (CH): CH1, CH2 і CH3. Легкий ланцюг може містити варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL) константну ділянку легкого ланцюга (CL). VH- і VL-ділянки можуть бути додатково підрозділені на ділянки гіперваріабельності, які називаються гіперваріабельними ділянками (ділянками, які визначають комплементарність) (CDR), між якими знаходяться більш консервативні ділянки, які називаються каркасними ділянками (FR). VH- і VL-ділянки, як правило, складаються з трьох CDR і чотирьох FR, які розташовуються в напрямку від амінокінця до карбоксикінця в наступному порядку: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Гіперваріабельні ділянки важкого і легкого ланцюгів формують зв'язуючий домен, який має здатність взаємодіяти з антигеном, в той час як константна ділянка антитіла може опосередковувати зв'язування імуноглобуліну з тканинами або факторами хазяїна, включаючи (але не обмежуючись тільки ними) різні клітини імунної системи (ефекторні клітини), Fc-рецептори і перший компонент (C1q) класичної системи комплементу. Антитіла, запропоновані в даному винаході, можуть перебувати в виділеній формі. Поняття "виділене антитіло" стосується антитіла, яке відокремлене і/або виділене з іншого(их) компонента(ів) навколишнього середовища, в якому воно було одержано, і/або очищено з суміші компонентів, присутніх в навколишньому середовищі, в якому воно було одержано. У контексті даного винаходу можна розглядати певні антигензв'язуючі фрагменти антитіл, якщо продемонстровано, що фрагменти повнорозмірного антитіла можуть виконувати антигензв'язуючу функцію антитіла.

Поняття "антигензв'язуючий фрагмент" антитіла стосується одного або декількох фрагменту(ів) антитіла, який(і) зберігають здатність специфічно зв'язуватися з антигеном, таким як TREM-1, представленим в даному описі. Приклади антигензв'язуючих фрагментів включають Fab-, Fab'-, F(ab)2-, F(ab')2-, F(ab)S-, Fv- (як правило, VL- і VH-домени одного плеча антитіла), одноланцюговий Fv- [scFv; див., наприклад, Bird та ін., Science 242, 1988, сс. 42S-426; Huston та ін., PNAS 85, 1988, сс. 5879-5883], dsFv-, Fd- (як правило, VH- і CH1-домени) і dAb- (як правило, VH-домен) фрагменти; VH-, VL-, VhH- і V-NAR-домени; одновалентні молекули, які містять один VH- і один VL-ланцюг; мініантитіла, діабоді, триабоді, тетрабоді і такі, які складаються з каппа-ланцюга антитіла [див., наприклад, III та ін., Protein Eng 10, 1997, сс. 949-957]; верблужі IgG; IgNAR; а також один або декілька виділених CDR або функціональний паратоп, де виділені CDR або антигензв'язуючі залишки або поліпептиди можуть бути асоційовані або зчеплені один з одним з утворенням функціонального фрагмента антитіла. Різні типи фрагментів антитіл описані або їх огляд наведено, наприклад, у [Holliger і Hudson, Nat Biotechnol 2S, 2005, сс. 1126-1136]; в публікації міжнародної заявки на патент [WO 2005/040219 і в публікаціях патентів США 2005/0238646 і 2002/0161201]. Зазначені фрагменти антитіл можна одержувати за допомогою загальноприйнятих методів, відомих спеціалістам в даній галузі, і фрагменти можна піддавати скринінгу відносно їх придатності таким же чином, що і інтактні антитіла.

Поняття "людське" антитіло (huMAb) стосується антитіла, що має варіабельні ділянки, в яких і каркасна ділянка, і CDR-ділянки мають походження з послідовностей імуноглобуліну людської зародкової лінії. Крім того, якщо антитіло містить константну ділянку, то константна ділянка також має походження з послідовностей імуноглобуліну людської зародкової лінії. Антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можуть включати амінокислотні залишки, які не кодуються послідовностями імуноглобуліну людської зародкової лінії (наприклад, мутації, інтродуковані за допомогою випадкового або сайт-специфічного мутагенезу *in vitro* або за допомогою соматичної мутації *in vivo*). Однак в контексті даного опису мається на увазі, що поняття "людське антитіло" не включає антитіла, в яких послідовності CDR, що мають походження з зародкової лінії інших видів ссавців, таких як миші, трансплантовані в послідовності людської каркасної ділянки. Поняття "людські" антитіла і "повністю людські" антитіла використовуються як синоніми.

Поняття "гуманізоване" антитіло стосується людського/нелюдського химерного антитіла, яке містить одну або декілька послідовностей (CDR-ділянок або їх частин), що має походження з імуноглобуліну видів крім людини. Так, гуманізоване антитіло являє собою людський

імуноглобулін (реципієнтне антитіло), в якому принаймні залишки з гіперваріабельної ділянки реципієнтного антитіла замінені на залишки з гіперваріабельної ділянки антитіла виду крім людини (донорське антитіло), такого як миші, щури, кролики або примати крім людини, які мають необхідну специфічність, афінність, склад послідовності і функціональності. У деяких випадках залишки FR людського імуноглобуліну замінюють на відповідні нелюдські залишки. Прикладом такої модифікації є інтродукція однієї або декількох так званих зворотних мутацій, які, як правило, представляють собою амінокислотні залишки, які мають походження з донорського антитіла. Гуманізацію антитіла можна здійснювати за допомогою методів рекомбінації, відомих спеціалісту в даній галузі [див., наприклад, *Antibody Engineering, Methods in Molecular Biology*, т. 248, під ред. Benyu K. C. Lo]. Придатну людську реципієнтну каркасну ділянку для варіабельного домену як легкого, так і важкого ланцюга, можна ідентифікувати, наприклад, на основі гомології послідовності або структурної гомології. Альтернативно до цього можна використовувати фіксовані реципієнтні каркасні ділянки, наприклад, на основі відомостей про структуру, біофізичних і біохімічних властивостей. Реципієнтні каркасні ділянки можуть мати походження з зародкової лінії або зі зрілої послідовності антитіла. CDR-ділянки з донорського антитіла можна переносити шляхом трансплантації CDR. Гуманізоване антитіло з трансплантованою CDR можна піддавати подальшій оптимізації, наприклад, щодо афінності, функціональності і біофізичних властивостей шляхом ідентифікації положень, які мають вирішальне значення в каркасній ділянці, повторна інтродукція в які (зворотна мутація) амінокислотного залишку з донорського антитіла сприятливо впливає на властивості гуманізованого антитіла. Крім застосування одержаних з використанням донорського антитіла зворотних мутацій гуманізоване антитіло можна створювати шляхом інтродукції залишків з зародкової лінії в CDR або каркасні ділянки, елімінації імунногенних епітопів, сайт-спрямованого мутагенезу, дозрівання афінності і т.д.

Крім того, гуманізовані антитіла можуть містити залишки, які не присутні в реципієнтному антитілі або в донорському антитілі. Такі модифікації здійснюють з метою додаткового поліпшення характеристик антитіла. В цілому гуманізоване антитіло має містити принаймні один, як правило, два варіабельних домена, в яких всі або практично всі CDR-ділянки відповідають ділянкам нелюдського імуноглобуліну і в яких всі або практично всі залишки FR являють собою залишки з послідовності людського імуноглобуліну. Гуманізоване антитіло необов'язково може містити також принаймні частину константної ділянки імуноглобуліну (Fc), як правило, людського імуноглобуліну. Поняття "похідне гуманізованого антитіла" стосується будь-якої модифікованої форми гуманізованого антитіла, такої як кон'югат, що містить антитіло і інший агент або інше антитіло.

Поняття "рекомбінантне людське антитіло" в контексті даного опису включає всі людські антитіла, які одержані, експресовані, створені або виділені за допомогою методів рекомбінації, такі як (а) антитіла, виділені з тварини (наприклад, миші), яка є трансгенною або трансхромосомною за генами людського імуноглобуліну або одержана з гібридоми, (б) антитіла, виділені із клітини-хазяїна, трансформованої для експресії антитіла, наприклад, з трансфектоми, (в) антитіла, виділені з рекомбінантної комбінаторної бібліотеки людських антитіл, і (г) антитіла, одержані, експресовані, створені або виділені за допомогою будь-яких інших методів, в яких застосовують сплайсинг послідовностей гена людського імуноглобуліну з іншими послідовностями ДНК. Такі рекомбінантні людські антитіла містять варіабельні і константні ділянки, основані на конкретних послідовностях імуноглобуліну людської зародкової лінії, але включають наступні перетворення і мутації, які виникають, наприклад, в процесі дозрівання антитіла. Як відомо в даній галузі [див., наприклад, *Lonberg, Nature Biotech.* 23(9), 2005, сс. 1117-1125], варіабельні ділянки містять антигензв'язуючий домен, який кодується різними генами, який перетворюють з одержанням антитіла, специфічного щодо чужого антигену. На додаток до перетворення варіабельну ділянку можна додатково модифікувати за допомогою декількох одиночних амінокислотних замін (що позначаються як соматична мутація або гіпермутація) для підвищення афінності антитіла до чужого антигену. Константну ділянку можна змінювати для додаткової відповіді на антиген (тобто шляхом перемикання ізотипу). Таким чином, молекули нуклеїнової кислоти, які кодують поліпептиди легкого ланцюга і важкого ланцюга імуноглобуліну, піддані перетворенню і соматичній мутації для відповіді на антиген, не можуть мати ідентичність послідовності з вихідними молекулами нуклеїнової кислоти, але вони повинні бути практично ідентичними або подібними (тобто, ідентичними принаймні на 80 %).

Поняття "химерне антитіло" стосується антитіла, в якому варіабельні ділянки мають походження з одного виду, а константні ділянки мають походження з іншого виду, наприклад, до антитіла, в якому варіабельні ділянки мають походження з мишачого антитіла, а константні ділянки мають походження з людського антитіла.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла до TREM-1, зазначені в даному описі, являють собою антитіла у вигляді IgG. У контексті даного опису "антитіло у вигляді IgG", наприклад, людський IgG1, у деяких варіантах здійснення винаходу має структуру антитіла, що зустрічається в природних умовах у вигляді IgG, тобто воно має таку ж кількість важких і легких ланцюгів і дисульфідних зв'язків, що і антитіло, яке зустрічається в природних умовах у вигляді IgG того ж підкласу. Наприклад, антитіло до TREM-1 у вигляді IgG1 складається з двох важких ланцюгів (HC) і двох легких ланцюгів (LC), де два важких ланцюга і легких ланцюга зчеплені за допомогою такої ж кількості і таким же чином розташованих дисульфідних містків, що і у антитілі, що зустрічається в природних умовах у вигляді IgG1 (якщо тільки антитіло не піддане мутації з метою модифікації дисульфідних містків).

У контексті даного опису поняття "ізотип" стосується класу антитіл (наприклад, антитіла у вигляді IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD і IgE), що кодується генами константної ділянки важкого ланцюга.

Поняття "алотип" стосується варіантів, які зустрічаються в природних умовах в конкретній ізотиповій групі, де варіанти розрізняються декількома амінокислотами [див., наприклад, Jefferis та ін., mAbs 1, 2009, с. 1]. Антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можуть стосуватися будь-якого алотипу. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 мають алотип "IgG1.3f", який містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з L234A, L235E і G237A (EU-нумерація), в порівнянні з ізотипом IgG1 дикого типу (наприклад, SEQ ID NO: 9). В інших варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 мають алотип "IgG1.1f", який містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з L234A, L235E, G237A, A330S і P331S (EU-нумерація), в порівнянні з ізотипом IgG1 дикого типу (наприклад, SEQ ID NO: 9). У конкретних варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 мають алотип "IgG1-Aba", який містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація), в порівнянні з ізотипом IgG1 дикого типу (наприклад, SEQ ID NO: 9). В інших варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 мають алотип "IgG4-Aba", який містить CH1-домен ізотипу IgG4 дикого типу (наприклад, SEQ ID NO: 10) і CH2- і CH3-домени IgG1. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла алотипу IgG4-Aba містить одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з S131C, K133R, G137E, G138S, Q196K, I199T, N203D, K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація), в порівнянні з ізотипом IgG1 дикого типу (наприклад, SEQ ID NO: 9).

Вирази "антитіло, яке розпізнає антиген" і "антитіло, яке має специфічність щодо антигену" використовуються в даному описі як взаємозамінні з поняттям "антитіло, яке специфічно зв'язується з антигеном".

У контексті даного опису мається на увазі, що поняття "виділене антитіло" стосується антитіла, яке відокремлене і/або виділене від/з іншого (их) компонента (ів) в навколишньому середовищі, в якому воно одержано, і/або очищено з суміші компонентів, присутніх в навколишньому середовищі, в якому воно одержано.

Поняття "ефекторна функція" стосується взаємодії Fc-ділянки антитіла з Fc-рецептором або лігандом, або біохімічної події, що сталася в результаті цього. Приклади "ефекторних функцій" включають зв'язування C1q, комплементзалежну цитотоксичність (CDC), зв'язування Fc-рецептора, FcγR-опосередковані ефекторні функції, такі як ADCC, і антитілозалежний клітинно-опосередкований фагоцитоз (ADCP), і знижувальну регуляцію рецептора клітинної поверхні (наприклад, B-клітинного рецептора; BCR). Такі ефекторні функції, як правило, вимагають об'єднання Fc-ділянки зі зв'язуючим доменом (наприклад, з варіабельним доменом антитіла). В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, містять Fc-ділянки, які не зв'язуються з одним або декількома FcγR і відтак не мають ефекторної функції (тобто не є ефекторами).

"Fc-рецептор" або "FcR" являє собою рецептор, який зв'язується з Fc-ділянкою імуноглобуліну. FcR, які зв'язуються з антитілом у вигляді IgG, включають рецептори сімейства FcγR, включаючи алельні варіанти і утворені в результаті альтернативного сплайсингу форми цих рецепторів. Сімейство FcγR складається з трьох активуючих (FcγRI, FcγRII і FcγRIV у мишей; FcγRIA, FcγRIIA і FcγRIIIA у людини) рецепторів і одного інгібуючого (FcγRIIB) рецептора. У даній галузі відомі різні властивості людських FcγR. Більшість таких, які зустрічаються в природних умовах типів ефекторних клітин, характеризуються спільною експресією одного або декількох активуючих FcγR і інгібуючого FcγRIIB, в той час як природні клітини-кілери (NK) вибірково експресують один активуючий Fc-рецептор (FcγRIII у мишей і FcγRIIIA у людини), але не інгібуючий FcγRIIB у мишей і у людини. Людський IgG1 зв'язується з більшістю людських Fc-рецепторів і розглядається як еквівалент мишачому IgG2a щодо типів

активуючих Fc-рецепторів, з якими він зв'язується.

Поняття "Fc-ділянка" (ділянка, яка являє собою фрагмент, який кристалізується) або "Fc-домен", або "Fc" стосується C-кінцевої ділянки важкого ланцюга антитіла, який опосередковує зв'язування імуноглобуліну з тканинами або факторами хазяїна, включаючи зв'язування з Fc-рецепторами, що знаходяться на різних клітинах імунної системи (наприклад, на ефекторних клітинах) або з першим компонентом (C1q) класичної системи комплементу. Таким чином, Fc-ділянка містить константну ділянку антитіла за винятком першого домену константної ділянки імуноглобуліну (наприклад, CH1 або CL).

В IgG Fc-ділянка містить імуноглобулінові домени CH2 і CH3 і шарнір між CH1- і CH2-доменами. Хоча визначення меж Fc-ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну може варіюватися, в контексті даного опису Fc-ділянку важкого ланцюга людського IgG визначають як сегмент, що простягається від амінокислотного залишку D221 в випадку IgG1, V222 в випадку IgG2, L221 в випадку IgG3 і P224 в випадку IgG4, до карбоксикінця важкого ланцюга (нумерація відповідно до EU-індексу Кебота). CH2-домен Fc-ділянки людського IgG простягається від амінокислоти 237 до амінокислоти 340, а CH3-домен розташовується на C-кінцевій стороні домену CH2 в Fc-ділянці, тобто він простягається від амінокислоти 341 до амінокислоти 447 або 446 (якщо відсутній C-кінцевий залишок лізину), або 445 (якщо відсутні C-кінцеві залишки гліцину і лізину) IgG. У контексті даного опису Fc-ділянка може являти собою таку, яка має нативну послідовність Fc, включаючи будь-які алотипові варіанти, або варіант Fc (наприклад, Fc, що не зустрічається в природних умовах). Поняття "Fc" може стосуватися також зазначеної ділянки, що розглядається окремо, або в контексті такого, який містить Fc-поліпептид білку, такого як "зв'язуючий білок, який містить Fc-ділянку", який називають також як "злитий з Fc білок" (наприклад, антитіло або імуноадгезивний агент).

"Fc-ділянка, яка має нативну послідовність" або "Fc, яка має нативну послідовність" містить амінокислотну послідовність, ідентичну амінокислотній послідовності Fc-ділянки, яка зустрічається в природних умовах. Такі, що мають нативну послідовність людські Fc-ділянки включають таку, що має нативну послідовність людського IgG1 Fc-ділянку; таку, що має нативну послідовність людського IgG2 Fc-ділянку; таку, що має нативну послідовність людського IgG3 Fc-ділянку; і таку, що має нативну послідовність людського IgG4 Fc-ділянку, а також їх варіанти, що зустрічаються в природних умовах. Нативна послідовність Fc включає різні алотипи Fc [див., наприклад, Jefferis та ін., mAbs 1, 2009, с. 1].

"Варіант послідовності Fc-ділянки" або "Fc, яка не зустрічається в природних умовах" містить модифікацію, як правило, яка служить для зміни однієї або декількох функціональних властивостей, таких як, серед іншого, час напіввиведення в сироватці, фіксація комплементу, зв'язування з Fc-рецептором, стабільність білку і/або антигензалежна клітинна цитотоксичність або її відсутність. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можуть бути модифіковані хімічно (наприклад, до антитіла можуть бути приєднані один або декілька хімічних фрагментів) або можуть бути модифіковані для зміни його глікозилювання, або для зміни одного або декількох функціональних властивостей антитіла. В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло до TREM-1 являє собою антитіло ізотипу IgG1 і несе модифікований Fc-домен, який містить одну або декілька і можливо всі з наступних мутацій, які призводять до зниженої афінності до певних Fc-рецепторів (L234A, L235E і G237A) і до зниженої C1q-опосередкованої фіксації комплементу (A330S і P331S) відповідно (залишки пронумеровані відповідно до EU-індексу).

Поняття "шарнір", "шарнірний домен", "шарнірна ділянка" і "шарнірна ділянка антитіла" стосуються домену константної ділянки важкого ланцюга, яка з'єднує CH1-домен з CH2-доменом і включає верхню, середню і нижню частину шарніра [Roux та ін., J Immunol 161, 1998, с. 4083]. Шарнір обумовлює різні ступені гнучкості між зв'язуючими і ефекторними ділянками антитіла і забезпечує також сайти для міжмолекулярного дисульфідного зв'язування константних ділянок двох важких ланцюгів. У контексті даного опису шарнір починається на Glu216 і закінчується на Gly237 у всіх ізотипах IgG [Roux та ін., J Immunol 161, 1998, с. 4083]. Послідовності шарнів IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4 дикого типу відомі в даній галузі [див., наприклад, публікацію міжнародної заявки на патент WO 2017/087678]. В одному з варіантів здійснення винаходу шарнірну ділянку CH1 антитіла до TREM-1 модифікують таким чином, щоб змінити, наприклад, збільшити або зменшити, кількість цистеїнових залишків в шарнірній ділянці. Такий підхід більш докладно описаний, наприклад, в [U.S. № 5677425].

Константну ділянку можна модифікувати для стабілізації антитіла, наприклад, для зниження ризику розділення дивалентного антитіла на два одновалентних VH-VL-фрагмента. Наприклад, в константній ділянці IgG4 залишок S228 (залишки пронумеровані відповідно до EU-індексу) можна піддавати мутації, замінюючи його на залишок проліну (P), для стабілізації

формування дисульфідного містка на шарнірі між важкими ланцюгами [див., наприклад, Angal та ін., *Mol Immunol.* 30, 1995, сс. 105-108]. Антитіла або їх фрагменти можна оцінювати також з позицій ділянок, які визначають їх комплементарність (CDR). Поняття "ділянка, яка визначає комплементарність" або "гіперваріабельна ділянка" в контексті даного опису стосується ділянок антитіла, в яких розташовані амінокислотні залишки, які беруть участь у зв'язуванні з антигеном. Ділянку гіперваріабельності або CDR можна ідентифікувати як ділянки, які характеризуються найбільшою варіабельністю, шляхом порівняльного аналізу амінокислот варіабельних доменів антитіла. Для ідентифікації CDR можна використовувати бази даних, такі як база даних Кебота, наприклад, CDR визначають як ділянки, які містять амінокислотні залишки 24-34 (CDR1), 50-59 (CDR2) і 89-97 (CDR3) варіабельного домена легкого ланцюга і 31-35 (CDR1), 50-65 (CDR2) і 95-102 (CDR3) варіабельного домена важкого ланцюга [Kabat та ін.; *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5-е вид., вид-во U.S. Department of Health and Human Services, публікація NIH № 91, 1991, с. 3242]. Альтернативно цьому CDR можна визначати як ділянки, які містять залишки з "гіперваріабельної петлі" (залишки 26-33 (L1), 50-52 (L2) і 91-96 (L3) в варіабельному домені легкого ланцюга і 26-32 (H1), 53-55 (H2) і 96-101 (H3) в варіабельному домені важкого ланцюга [Chothia і Lesk, *J. Mol. Biol.* 196, 1987, сс. 901-917]. Як правило, нумерацію амінокислотних залишків в даній галузі здійснюють за допомогою методу, описаного у Kabat та ін., вище. Такі вирази, як "положення за Кеботом", "залишок за Кеботом" і "відповідно до Кебота", в контексті даного опису стосуються зазначеної системи нумерації для варіабельних доменів важкого ланцюга і варіабельних доменів легкого ланцюга. При використанні системи нумерації Кебота фактична лінійна амінокислотна послідовність пептиду може містити меншу кількість амінокислот або додаткові амінокислоти, що відповідає вкороченню або наявності інсерції в каркасній ділянці (FR) або CDR варіабельного домену. Наприклад, варіабельний домен важкого ланцюга може включати амінокислотні інсерції (залишки 52a, 52b і 52c відповідно до Кебота) після залишку 52 CDR H2 і вбудовані шляхом інсерції залишки (наприклад, залишки 82a, 82b і 82c і т.д. відповідно до Кебота) після залишку 82 FR важкого ланцюга. Номери залишків за Кеботом можна визначати для розглянутого антитіла шляхом порівняльного аналізу ділянок гомології послідовності антитіла зі "стандартною" пронумерованою відповідно до Кебота послідовністю.

Поняття "епітоп" або "антигенна детермінанта" стосується сайту на антигені (наприклад, TREM-1), з яким специфічно зв'язується імуноглобулін або антитіло, що визначають, наприклад, за допомогою специфічного методу, призначеного для його ідентифікації. Епітопи можуть бути сформовані як безперервно розташованими амінокислотами (як правило, в випадку лінійного епітопу), так і не розташованими безперервно амінокислотами, які зближуються одна з одною в результаті третинного укладання (фолдінгу) білку (як правило, в випадку конформаційного епітопу). Епітопи, сформовані з безперервно розташованих амінокислот, як правило, але не завжди, зберігаються при впливі денатуруючих розчинників, в той час як епітопи, сформовані в результаті теоретичного фолдінгу, як правило, втрачаються при обробці денатуруючими розчинниками. Епітоп, як правило, включає принаймні 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15 амінокислот, що знаходяться в унікальній просторовій конформації. Методи визначення того, які епітопи зв'язуються з розглянутим антитілом (тобто картування епітопів), добре відомі в даній галузі і включають, наприклад, аналізи методом імуноблотингу і імунопреципітації, в яких тестують пептиди, які перекриваються або безперервні пептиди (наприклад, з TREM-1) для оцінки реактивності щодо розглянутого антитіла (наприклад, антитіла до TREM-1). Методи визначення просторової конформації епітопів включають методи, відомі в даній галузі, і методи, представлені в даному описі, наприклад, рентгенівську кристалографію, мутаційний аналіз антигену, 2-мірний ядерний магнітний резонанс і HDX-MS [див., наприклад, *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, т. 66, під ред. G. E. Morris, 1996].

Поняття "зв'язується з тим же самим епітопом" може бути застосовано до двох або більшої кількості антитіл, і означає, що антитіла зв'язуються з одним і тим же сегментом амінокислотних залишків за даними розглянутого методу. Методи визначення того, чи зв'язуються антитіла з "тим же самим епітопом на TREM-1", що і антитіла, представлені в даному описі, включають, наприклад, методи картування епітопів, такі як рентгенографічний аналіз кристалів комплексів антиген: антитіло, який забезпечує здатність епітопу на рівні атомів, і мас-спектрометричний аналіз обміну водень / дейтерій (HDX-MS). За допомогою інших методів здійснюють моніторинг зв'язування антитіла з фрагментами антигену або мутантними варіантами антигену, де втрату здатності до зв'язування внаслідок модифікації амінокислотного залишку в послідовності антигену часто розглядають як показник присутності компонента епітопу. Крім того, для картування епітопів можна застосовувати також обчислювальні комбінаторні методи. Ці методи базуються на здатності антитіла, яке представляє інтерес, виділяти на основі афінності

специфічні короткі пептиди з комбінаторних фагових дисплейних пептидних бібліотек. Передбачається, що антитіла, які мають одні і ті ж послідовності VH і VL або одні і ті ж послідовності CDR1, 2 і 3, повинні зв'язуватися з одним і тим же епітопом.

Поняття "антитіла, які конкурують з іншим антитілом за зв'язування з мішенню", стосується антитіл, які інгібують (частково або повністю) зв'язування іншого антитіла з мішенню. Питання про те, чи конкурують два антитіла один з одним за зв'язування з мішенню, тобто чи інгібує і якою мірою одне антитіло зв'язування іншого антитіла з мішенню, можна вирішувати за допомогою відомих експериментів в умовах конкуренції, наприклад, за допомогою BIACORE®-аналізу на основі методу поверхневого плазмонного резонансу (SPR). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло конкурує з іншим антитілом і інгібує його зв'язування з мішенню принаймні на 50, 60, 70, 80, 90 або 100 %. Рівень інгібування або конкуренції може бути різним у залежності від того, яке антитіло являє собою "блокуюче антитіло" (тобто "холодне" антитіло, яке першим інкубують з мішенню). Аналізи в умовах конкуренції можна проводити відповідно до методів, описаних, наприклад, в [Cold Spring Harb Protoc; під ред. Harlow і David Lane, 2006; doi: 10.1101/pdb.prot4277 або у главі 11 "Using Antibodies" під ред. Harlow і David Lane, вид-во Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 1999]. Два антитіла "перехресно конкурують один з одним", якщо антитіла взаємно блокують одне одного принаймні на 50 %, тобто безвідносно до того, яке з двох антитіл першим приводять у контакт з антигеном при проведенні аналізу в умовах конкуренції.

У контексті даного опису поняття "специфічне зв'язування", "вибіркове зв'язування", «вибірково зв'язується» і "специфічно зв'язується" стосуються зв'язування антитіла з епітопом на заздалегідь визначеному антигені. Як правило, зв'язування антитіла характеризується (I) константою рівноваги реакції дисоціації (K_D), яка становить менше ніж приблизно 10^{-7} М, наприклад, менше ніж приблизно 10^{-8} М, 10^{-9} М або 10^{-10} М або навіть ще менше, при її визначенні, наприклад, із застосуванням технології поверхневого плазмонного резонансу (SPR) за допомогою пристрою BIACORE® 2000 з використанням заздалегідь визначеного антигену, наприклад, рекомбінантного людського TREM-1, як аналізу і антитіла як ліганда, або аналізу зв'язування антитіла з позитивними за антигеном клітинами за методом Скетчарда, і (II) афінністю зв'язування із заздалегідь визначеним антигеном, що принаймні вдвічі більше його афінності зв'язування з неспецифічним антигеном (наприклад, БСА, казеїном), відмінним від заздалегідь визначеного антигену або близькоспорідненого антигену. Таким чином, антитіло, яке "специфічно зв'язується з людським TREM-1", являє собою антитіло, зв'язування якого з розчинним або зв'язаним з клітиною людським TREM-1 характеризується величиною K_D , яка становить 10^{-7} М або менше, наприклад, менше ніж приблизно 10^{-8} М, 10^{-9} М або 10^{-10} М або навіть ще менше. Антитіло, яке "дає перехресну реакцію з TREM-1 мавп циномолгус", стосується антитіла, зв'язування якого з TREM-1 мавп циномолгус характеризується величиною K_D , яка становить 10^{-7} М або менше, наприклад, менше ніж приблизно 10^{-8} М, 10^{-9} М або 10^{-10} М або навіть ще менше. У деяких варіантах здійснення винаходу такі антитіла, які не дають перехресну реакцію з TREM-1 з видів крім людини, характеризуються рівнем зв'язування з зазначеними білками, що практично не виявляється, за даними стандартного аналізу зв'язування.

У контексті даного опису поняття "специфічність зв'язування" стосується взаємодії молекули, такої як антитіло або його фрагмент, з одним єдиним антигеном або з обмеженою кількістю високогомологічних антигенів (або епітопів). І навпаки, антитіла, які мають здатність специфічно зв'язуватися з TREM-1, не мають здатності зв'язуватися з несхожими з ним молекулами. Антитіла, пропоновані у винаході, можуть не мати здатності зв'язуватися з Nkr44, білком, спорідненим р44 природних клітин-кілерів.

Специфічність взаємодії і величину константи рівноваги реакції зв'язування можна визначати безпосередньо за допомогою добре відомих методів. Стандартні аналізи для оцінки здатності лігандів (таких як антитіла) зв'язуватися з їх мішенями відомі в даній галузі і включають, наприклад, ELISA, вестерн-блоттинг, PIA і аналіз методом проточної цитометрії. Кінетичні характеристики зв'язування і афінність зв'язування антитіла також можна оцінювати за допомогою стандартних аналізів, відомих в даній галузі, таких як SPR.

Аналізи зв'язування в умовах конкуренції для визначення того, чи конкурують або перехресно конкурують два антитіла за зв'язування, включають: аналіз конкуренції за зв'язування з імітоїдними клітинами, які експресують TREM-1, наприклад, за допомогою методу проточної цитометрії, такого як описаний в розділі "Приклади". Інші методи включають: SPR (наприклад, BIACORE®), твердофазний прямий або непрямий радіоімунаналіз (PIA), твердофазний прямий чи непрямий імуоферментний аналіз (EIA), конкурентний сендвіч-аналіз [див. Stahli та ін., Methods in Enzymology 9, 1983, с. 242]; твердофазний прямий EIA з

використанням взаємодії біотин-авідин [див. Kirkland та ін., J. Immunol. 137, 1986, с. 3614]; твердофазний прямий аналіз із застосуванням міченої сполуки, твердофазний прямий сендвіч-аналіз із застосуванням міченої сполуки [див. Harlow і Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, вид-во Cold Spring Harbor Press, 1988]; твердофазний прямий RIA із застосуванням міченої сполуки з використанням мітки 1-125 [див. Morel та ін., Mol. Immunol. 25(1), 1988, с. 7]; твердофазний прямий EIA з використанням взаємодії біотин-авідин [Cheung та ін., Virology 176, 1990, с. 546]; і прямий RIA з використанням міченої сполуки [Moldenhauer та ін., Scand. J. Immunol. 32, 1990, с. 77].

У контексті даного опису поняття "група" визначено по відношенню до референс-антитіла. Якщо друге антитіло не може зв'язуватися з антигеном одночасно з референс-антитілом, то вважається, що друге антитіло входить в ту ж саму "групу", що і референс-антитіло. В цьому випадку референс-антитіло і друге антитіло зв'язуються з однією і тією ж частиною антигену і їх позначають як "конкуруючі антитіла". Якщо друге антитіло здатне зв'язуватися з антигеном одночасно з референс-антитілом, то вважається, що друге антитіло входить в іншу "групу". В цьому випадку референс-антитіло і друге антитіло не конкурують за зв'язування з однією і тією ж частиною антигену і їх позначають як "неконкуруючі антитіла".

Групування антитіл не дає прямої інформації про епітоп. Для конкуруючих антитіл, тобто антитіл, що входять в одну і ту ж "групу", епітопи можуть являти собою ідентичні епітопи, епітопи, які перекриваються, або навіть різні епітопи. Останнє має місце в тому випадку, коли референс-антитіло, зв'язане зі своїм епітопом на антигені, займає простір, який потрібен для того, щоб наступне антитіло могло вступити в контакт зі своїм епітопом на антигені ("стерична перешкода"). Неконкуруючі антитіла, як правило, мають різні епітопи.

У контексті даного опису поняття "афінність зв'язування" стосується вимірювання сили нековалентної взаємодії двох молекул, наприклад, антитіла або його фрагмента і антигену. Поняття "афінність зв'язування" застосовують для опису одновалентних взаємодій (активності, внутрішньо властивої молекулам).

Афінність зв'язування двох молекул, наприклад, антитіла або його фрагмента і антигену, обумовлену одновалентною взаємодією, можна кількісно оцінювати шляхом визначення константи рівноваги реакції дисоціації (K_D). В свою чергу, K_D можна визначати шляхом вимірювання кінетичних характеристик процесу формування та дисоціації комплексу, наприклад, за допомогою методу SPR. Константи швидкості, відповідні асоціації та дисоціації одновалентного комплексу, позначають як константа швидкості реакції асоціації k_a (або k_{on}) і константа швидкості реакції дисоціації k_d (або k_{off}) відповідно. K_D зв'язана з k_a і k_d рівнянням $K_D = k_d/k_a$. Відповідно до зазначеного вище визначення при порівнянні афінностей зв'язування різних антитіл з даним антигеном афінності зв'язування, асоційовані з різними молекулярними взаємодіями, можна порівнювати, наприклад, шляхом порівняння величин K_D для індивідуальних комплексів антитіло/антиген.

У контексті даного опису поняття "висока афінність" щодо антигену-мішені для антитіла у вигляді IgG стосується антитіла, що має величину K_D , яка становить 10^{-8} М або менше, 10^{-9} М або менше або 10^{-10} М або менше. Однак "висока афінність" зв'язування може відрізнятися від вказаного рівня для інших ізотипів антитіла. Наприклад, "висока афінність" зв'язування для ізотипу IgM стосується антитіла, що має величину K_D , яка становить 10^{-10} М або менше або 10^{-8} М або менше.

Поняття "EC₅₀" в контексті аналізу *in vitro* або *in vivo* з використанням антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента стосується концентрації антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, що індукує відповідь, що становить 50 % від максимальної відповіді на терапію, тобто знаходиться посередині між максимальною відповіддю і вихідним рівнем.

У контексті даного опису поняття "що зустрічається в природних умовах", яке застосовується до об'єкта, відображає той факт, що об'єкт може бути присутнім в природі. Наприклад, поліпептидна або полінуклеотидна послідовність, яка присутня в організмі (включаючи віруси), яка може бути виділена з природного джерела і яка не модифікована навмисно людиною в лабораторії, являє собою послідовність, що зустрічається в природних умовах.

Поняття "поліпептид" стосується ланцюга, який містить принаймні два послідовно зчеплених амінокислотних залишка, при цьому не існує обмеження на верхню межу довжини ланцюга. Один або декілька амінокислотних залишків у білку можуть містити модифікацію, таку як (але не обмежуючись тільки ними) глікозилування, фосфорилування або формування дисульфідного зв'язку. "Білок" може містити один або декілька поліпептидів.

У контексті даного опису поняття "молекула нуклеїнової кислоти" включає молекули ДНК і молекули РНК. Молекула нуклеїнової кислоти може бути одноланцюговою або дволанцюговою,

і вона може являти собою кДНК.

"Консервативні амінокислотні заміни" стосуються заміни амінокислотного залишку на амінокислотний залишок, який має подібний бічний ланцюг. Сімейства амінокислотних залишків, які мають подібні бічні ланцюги, визначені в даній галузі. Ці сімейства включають амінокислоти з основними бічними ланцюгами (наприклад, лізин, аргінін, гістидин), кислотними бічними ланцюгами (наприклад, аспарагінова кислота, глутамінова кислота), незарядженими полярними бічними ланцюгами (наприклад, гліцин, аспарагін, глутамін, серин, треонін, тирозин, цистеїн, триптофан), неполярними бічними ланцюгами (наприклад, аланін, валін, лейцин, ізолейцин, пролін, фенілаланін, метіонін), бета-розгалуженими бічними ланцюгами (наприклад, треонін, валін, ізолейцин) та ароматичними бічними ланцюгами (наприклад, тирозин, фенілаланін, триптофан, гістидин). У деяких варіантах здійснення винаходу заздалегідь визначений залишок заміної амінокислоти в антибіотіці до TREM-1 замінюють на інший амінокислотний залишок з того ж самого сімейства бічних ланцюгів. Методи ідентифікації консервативних нуклеотидних амінокислотних заміни, які не усувають зв'язування з антигеном, добре відомі в даній галузі [див., наприклад, Brummell та ін., *Biochem.* 32, 1993, сс. 1180-1187; Kobayashi та ін., *Protein Eng.* 12(10), 1999, сс. 879-884; і Burks та ін., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 1997, сс. 412-417].

Щодо нуклеїнових кислот поняття "істотна гомологія" означає, що в двох нуклеїнових кислотах або послідовностях, які їх визначають, при оптимальному вирівнюванні і порівнянні з урахуванням відповідних інсерцій або делецій нуклеотидів принаймні приблизно 80 % нуклеотидів, принаймні приблизно від 90 до 95 % або приблизно від 98 до 99,5 % нуклеотидів є ідентичними. Альтернативно до цього істотна гомологія має місце в тому випадку, коли сегменти гібридизуються в умовах селективної гібридизації з комплементом ланцюга.

Щодо поліпептидів поняття "істотна гомологія" означає, що в двох поліпептидах або послідовностях, які їх визначають, при оптимальному вирівнюванні і порівнянні з урахуванням відповідних інсерцій або делецій амінокислот принаймні приблизно 80 % нуклеотидів, принаймні приблизно від 90 до 95 % або приблизно від 98 до 99,5 % амінокислот є ідентичними.

Відсоток ідентичності двох послідовностей є функцією кількості ідентичних положень, наявних в послідовності (тобто, % гомології = кількість ідентичних положень/загальна кількість положень $\times$ 100), з урахуванням кількості "проломів" і довжини кожного "пролomu", які потрібно інтродуціювати для здійснення оптимального вирівнювання двох послідовностей. Порівняння послідовностей та визначення відсотка ідентичності двох послідовностей можна здійснювати з використанням математичного алгоритму, як описано нижче в прикладах, що не обмежують обсяг винаходу.

Відсоток ідентичності двох нуклеотидних послідовностей можна визначати з використанням програми GAP, що входить в пакет програм GCG (доступна на сайті в мережі інтернет web.gcg.com), з використанням матриці NWSgapdna.CMP і маси "пролomu" 40, 50, 60, 70 або 80 і маси довжини 1, 2, 3, 4, 5 або 6. Відсоток ідентичності двох нуклеотидних або амінокислотних послідовностей можна визначати також з використанням [алгоритму E. Meyers і W. Miller (CABIOS, 4, 1989, сс. 11-17)], який включений в програму ALIGN (версія 2.0), використовуючи таблицю маси залишків, штраф за довжину "пролomu" 12 і штраф за "пролом" 4. Крім того, відсоток ідентичності двох амінокислотних послідовностей можна визначати з використанням алгоритму [Needleman і Wunsch (*J. Mol. Biol.* (48), 1970, сс. 444-453)], який включений в програму GAP, яка входить в пакет програм GCG [доступна на сайті в мережі інтернет web.gcg.com], з використанням або матриці Blossum 62, або матриці PAM250 і маси пролomu 16, 14, 12, 10, 8, 6 або 4 і маси довжини 1, 2, 3, 4, 5 або 6.

Нуклеотидні і білкові послідовності, представлені в даному описі, можна застосовувати також як "запитувану послідовність" для здійснення пошуку в публічних базах даних, наприклад, для ідентифікації споріднених послідовностей. Такі пошуки можна здійснювати з використанням програм NBLAST і XBLAST (версія 2.0), [описаних у Altschul та ін. *J. Mol. Biol.* 215, 1990, сс. 403-410]. Пошуки нуклеотидних послідовностей за допомогою алгоритму BLAST можна здійснювати з використанням програми NBLAST, бал = 100, довжина слова = 12 з одержанням нуклеотидних послідовностей, гомологічних молекулам нуклеїнової кислоти, представленим в даному описі. Пошуки білкових послідовностей за допомогою алгоритму BLAST можна здійснювати з використанням програми XBLAST, бал = 50, довжина слова = 3 з одержанням амінокислотних послідовностей, гомологічних молекулам білків, представленим в даному описі. Для здійснення вирівнювань з використанням проломів для цілей порівняння можна застосовувати програму Gapped BLAST згідно з процедурою, описаною у [Altschul та ін., *Nucleic Acids Res.* 25(17), 1997, сс. 3389-3402]. При застосуванні програм BLAST і Gapped BLAST можна використовувати задані за умовчанням параметри відповідних програм (наприклад, XBLAST і NBLAST) [див. worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov].

Нуклеїнові кислоти можуть бути присутніми в цільних клітинах, в клітинному лізаті або в частково очищеній або практично очищеній формі. Нуклеїнова кислота є "виділеною" або розглядається як "практично чиста", якщо вона очищена від інших клітинних компонентів або інших домішок, наприклад, від інших присутніх в клітині нуклеїнових кислот (наприклад, від інших частин хромосоми) або білків, за допомогою стандартних методів, включаючи обробку лугом/ДСН, CsCl-бендінг (розділення в CsCl), хроматографію на колонках, електрофорез в агарозному гелі та інші добре відомі в даній галузі методи [див. Current Protocols in Molecular Biology, під ред. F. Ausubel та ін., вид-во Greene Publishing and Wiley Interscience, New York, 1987].

Нуклеїнові кислоти, наприклад, кДНК, можна піддавати мутації відповідно до стандартних методів для одержання генних послідовностей. У випадку кодуєчих послідовностей зазначені мутації можуть впливати на амінокислотну послідовність, якщо це потрібно. Зокрема, можна розглядати послідовності ДНК, практично гомологічні або які мають походження з нативних сегментів генів V, D, J, константних послідовностей, перемикачів та інших аналогічних послідовностей, представлених в даному описі (де поняття "що має походження" означає, що послідовність ідентична іншій послідовності або одержана з неї шляхом модифікації).

У контексті даного опису поняття "вектор" означає молекулу нуклеїнової кислоти, яка здатна транспортувати іншу нуклеїнову кислоту, з якою вона зчеплена. Одним з типів вектора є "плазмід", це поняття стосується петлі кільцевої дволанцюгової ДНК, в яку можна вбудовувати за допомогою лігування додаткові ДНК-сегменти. Іншим типом вектора є вірусний вектор, в цьому випадку додаткові ДНК-сегменти можна вбудовувати шляхом лігування в вірусний геном. Деякі вектори здатні автономно реплікуватися в клітині-хазяїні, в яку вони інтродуковані (наприклад, бактеріальні вектори, які мають бактеріальний сайт ініціації реплікації, і епісомальні вектори для клітин ссавців). Інші вектори (наприклад, неепісомальні вектори для клітин ссавців) можна інтегрувати в геном клітини-хазяїна шляхом інтродукції в клітину-хазяїна, де відбувається їх реплікація поряд з геномом хазяїна. Крім того, деякі вектори мають здатність направляти експресію генів, з якими вони функціонально зв'язані. Такі вектори в контексті даного опису означають як "рекомбінантні експресійні вектори" (або просто "експресійні вектори"). В цілому, експресійні вектори, які застосовуються в методах рекомбінантних ДНК, часто знаходяться в формі плазмід. У даному описі поняття "плазмід" і "вектор" можна застосовувати як взаємозамінні, оскільки плазмід являє собою найбільш широко застосовувану форму вектора. Однак поняття включає також і інші форми експресійних векторів, такі як вірусні вектори (наприклад, ретровіруси, аденовіруси та аденоасоційовані віруси з дефективною реплікацією), які виконують еквівалентні функції.

У контексті даного опису поняття "рекомбінантна клітина-хазяїн" (або просто "клітина-хазяїн") призначене для позначення клітини, яка містить нуклеїнову кислоту, не присутню в природних умовах в клітині, і вона може являти собою клітину, в яку інтродукований рекомбінантний експресійний вектор. Слід розуміти, що такі поняття стосуються не тільки конкретної розглянутої клітини, але також і потомства такої клітини. Оскільки в наступних поколіннях можуть виникати певні модифікації або внаслідок мутацій, або обумовлені впливом навколишнього середовища, то таке потомство фактично не може бути ідентичним батьківській клітині, але воно все ще підпадає під обсяг поняття "клітина-хазяїн", яке застосовується в даному описі.

У контексті даного опису поняття "зчеплений" ("зв'язаний") стосується асоціації двох або більшої кількості молекул. Зв'язок може бути ковалентним або нековалентним. Зв'язок може бути також обумовлений генетичними причинами (тобто, одержаний шляхом рекомбінантного злиття). Такі зв'язки можна створювати за допомогою широкої різноманітності прийнятих в даній галузі методів, таких як хімічна кон'югація і одержання білку шляхом рекомбінації.

У контексті даного опису поняття "введення" стосується фізичної інтродукції композиції, яка містить терапевтичний агент, в організм індивідуума за допомогою будь-яких різних методів і систем доставки, відомих спеціалістам в даній галузі. Різні шляхи введення антитіла до TREM-1, представленого в даному описі, включають внутрішньовенний, внутрішньочеревний, внутрішньом'язовий, підшкірний, спинальний або інші парентеральні шляхи введення, наприклад, введення шляхом ін'єкції або інфузії. Поняття "парентеральне введення" в контексті даного опису означає шляхи введення, відмінні від ентерального і місцевого введення, як правило, шляхом ін'єкції, і включає (але не обмежуючись тільки ними) внутрішньовенну, внутрішньочеревну, внутрішньом'язову, внутрішньоартеріальну, внутрішньооболонкову, внутрішньолімфатичну, всередину пошкодження, інтракапсулярну, внутрішньоочну, внутрішньосерцеву, внутрішньошкірну, транстрахеальну, підшкірну, субкутікулярну, внутрішньосуглобову, субкапсулярну, субарахноїдальну, інтраспінальну, епідуральну і

інтрастернальну ін'єкцію і інфузію, а також електропорацію *in vivo*. Альтернативно до цього антитіло, представлене в даному описі, можна вводити непарентеральним шляхом, таким як місцеве введення, епідермальний шлях введення або введення через слизову оболонку, наприклад, інтраназально, орально, вагінально, ректально, під'язиково або місцево. Введення можна здійснювати, наприклад, також одноразово, декілька разів і/або протягом одного або декількох тривалих періодів часу.

У контексті даного опису поняття "інгібує" або "блокує" (наприклад, стосовно інгібування/блокування зв'язування ліганда TREM-1 з TREM-1 на клітинах) використовують як взаємозамінні і вони включають як часткове, так і повне інгібування/блокування. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 інгібує зв'язування ліганда для TREM-1 з TREM-1 принаймні приблизно на 50 %, наприклад, приблизно на 60, 70, 80, 90, 95, 99 або 100 % за даними оцінки згідно з поданими далі в даному описі методами. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 інгібує зв'язування ліганда для TREM-1 з TREM-1 не більше ніж на 50 %, наприклад, приблизно на 40, 30, 20, 10, 5 або 1 % за даними оцінки згідно з поданими далі в даному описі методами.

Поняття "лікувати", "лікування" і "обробка" в контексті даного опису стосуються будь-якого типу втручання або процесу, що здійснюється в відношенні індивідуума, або введення йому діючої речовини з метою реверсування, полегшення, ослаблення, інгібування або уповільнення, або попередження прогресування, розвитку, серйозності або рецидиву симптому, ускладнення, стану або біохімічного показника, асоційованого із захворюванням, або підвищення загального виживання. Можна здійснювати лікування індивідуума, що має захворювання, або індивідуума, що не має захворювання (наприклад, для профілактики).

Поняття "ефективна доза" або "ефективне дозування" означає кількість, достатню для досягнення або принаймні часткового досягнення необхідної дії. "Терапевтично ефективна кількість" або "терапевтично ефективна доза" лікарського засобу або терапевтичного агента являє собою кількість лікарського засобу, яка при його застосуванні окремо або в комбінації з іншим терапевтичним агентом підсилює регрес захворювання, що проявляється в зниженні серйозності симптомів захворювання, збільшенні частоти і тривалості безсимптомних періодів захворювання або запобігання погіршення або непрацездатності внаслідок ураження захворюванням. Терапевтично ефективна кількість або доза лікарського засобу включає "профілактично ефективну кількість" або "профілактично ефективну дозу", яка являє собою будь-яку кількість лікарського засобу, яка, при введенні окремо або в комбінації з іншим терапевтичним агентом індивідууму, який має ризик розвитку захворювання або страждає на рецидив захворювання, інгібує розвиток або рецидив захворювання. Здатність терапевтичного агента посилювати регрес захворювання або інгібувати розвиток або рецидив захворювання, можна оцінювати за допомогою різних методів, відомих практикуючому спеціалісту, наприклад, в процесі клінічних випробувань на людях, за допомогою систем з використанням тваринних моделей, які дозволяють прогнозувати ефективність щодо людини, або шляхом аналізу активності агента в аналізах *in vitro*.

Поняття "пацієнт" включає людину та інших ссавців, яких піддають профілактичному або терапевтичному лікуванню.

У контексті даного опису поняття "індивідуум" включає будь-яку людину або тварину крім людини. Наприклад, способи і композиції, представлені в даному описі, можна застосовувати для лікування індивідуума, який має рак. Поняття "тварина крім людини" включає всіх хребетних, наприклад, ссавців і не ссавців, таких як примати крім людини, вівці, собаки, корови, кури, амфібії, рептилії і т.д.

У контексті даного опису поняття "мікрограм" і "мікромоль" використовуються як взаємозамінні з поняттями "мкг" і "мкМ" відповідно.

У наведених нижче підрозділах різні аспекти винаходу, представлені в даному описі, описані більш детально.

I. Антитіла до TREM-1

У даному описі представлені антитіла, наприклад, повністю людські антитіла, які мають конкретні функціональні характеристики або властивості. Наприклад, антитіла, представлені в даному описі, специфічно зв'язуються з людським TREM-1 і більш конкретно з певним доменом (наприклад, функціональним доменом) в позаклітинному домені людського TREM-1. В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла специфічно зв'язуються з сайтом на TREM-1, з яким зв'язується ліганд для TREM-1 (наприклад, PGLYRP1). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла являють собою антагоністичні антитіла, тобто вони інгібують або пригнічують активність TREM-1 (тобто не мають агоністичної активності при зв'язуванні) на клітинах, наприклад, моноцитах, макрофагах і нейтрофілах. У деяких варіантах здійснення винаходу

антитіла до TREM-1 дають перехресну реакцію з TREM-1 з одного або декількох приматів крім людини, таких як TREM-1 мавп циномолгус. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 блокують продукування прозапальних цитокінів (наприклад, IL-6, TNF- α , IL-8, IL-1 β , IL-12 і їх комбінацій) клітинами (наприклад, макрофагами, дендритними клітинами, нейтрофілами) після активації. В інших варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містять Fc-ділянки, що не зв'язуються з одним або декількома Fc γ R. У наступних варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 не індують вивільнення прозапальних цитокінів мієлоїдними клітинами (наприклад, дендритними клітинами) і тим самим зменшують цитокіновий шторм або попереджують його наступ після введення антитіла до TREM-1 індивідууму, який цього потребує.

У деяких варіантах здійснення винаходу конкретні антитіла до TREM-1, зазначені в даному описі, являють собою антитіла, наприклад, моноклональні, рекомбінантні і/або людські антитіла, які перехресно конкурують з mAb 0318 за зв'язування з людським TREM-1. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 перехресно конкурують також з mAb 0318 за зв'язування з TREM-1 мавп циномолгус. Іншими словами, антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, в конкретних варіантах здійснення винаходу входять в ту ж саму "групу", що і mAb 0318.

Антитіло mAb 0318 має варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), яка містить SEQ ID NO: 14, і варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), яка містить SEQ ID NO: 15 (див. публікацію міжнародної заявки на [патент 2016/009086]. mAb 0318 має також CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга, які відповідають амінокислотам 31-35, 50-68 і 101-110 SEQ ID NO: 14 відповідно. CDR1, CDR2 і CDR3 легкого ланцюга антитіла mAb 0318 відповідають амінокислотам 24-38, 54-60 і 93-101 SEQ ID NO: 15.

Отже, у деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, містить VH і VL, які мають SEQ ID NO: 14 і SEQ ID NO: 15 відповідно. В іншому варіанті здійснення винаходу VH антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR1, яка складається з амінокислот 31-35 (TYAMH) SEQ ID NO: 14, в якій одна з амінокислот може бути замінена на іншу амінокислоту. У конкретних варіантах здійснення винаходу VH антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR2, яка складається з амінокислот 50-68 (RIRTKSSNYATYYAASVKG) SEQ ID NO: 14, в якій одна, дві або три амінокислоти можуть бути замінені на іншу амінокислоту. У деяких варіантах здійснення винаходу VH антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR3, яка складається з амінокислот 101-110 (DMGIRRRQFAY) SEQ ID NO: 14, в якій одна, дві або три амінокислоти можуть бути замінені на іншу амінокислоту.

У деяких варіантах здійснення винаходу VL антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR1, яка складається з амінокислот 24-38 (QQSNQDPYT) SEQ ID NO: 15, в якій одна, дві або три амінокислоти можуть бути замінені на іншу амінокислоту. В інших варіантах здійснення винаходу VL антитіло до TREM-1 містить послідовність CDR2, яка складається з амінокислот 54-60 (RASNLES) SEQ ID NO: 15, в якій одна або дві амінокислоти можуть бути замінені на іншу амінокислоту. У деяких варіантах здійснення винаходу VL антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR3, яка складається з амінокислот 93-101 (QQSNQDPYT) SEQ ID NO: 15, в якій одна або дві амінокислоти можуть бути замінені на іншу амінокислоту.

Залишки метіоніну в CDR антитіл можуть окиснюватися, що приводить до можливого хімічного розщеплення та подальшого зниження ефективності антитіла. Отже, в антитілах до TREM-1, представлених в даному описі, один або декілька залишків метіоніну в CDR важкого і/або легкого ланцюга можуть бути замінені амінокислотними залишками, що не зазнають окиснювального розщеплення. У деяких варіантах здійснення винаходу залишки метіоніну в CDR1 і CDR3 важкого ланцюга замінюються на амінокислотні залишки, що не зазнають окиснювального розщеплення (наприклад, на глютамін або лейцин). Таким чином, в одному з варіантів здійснення винаходу VH антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR3, яка складається з амінокислот 101-110 (DQGIRRRQFAY) SEQ ID NO: 81 або амінокислот 101-110 (DLGIRRRQFAY) SEQ ID NO: 82. В інших варіантах здійснення винаходу VH антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR1, яка складається з амінокислот 31-35 (TYAQH) SEQ ID NO: 83 або амінокислот 31-35 (TYALH) SEQ ID NO: 84. Так само у деяких варіантах здійснення винаходу з антитіла до TREM-1, перш за все з CDR, можуть бути видалені сайти дезамінування.

У деяких варіантах здійснення винаходу VH і VL антитіла до TREM-1 містять послідовності VH і VL антитіла до TREM-1, описані в публікації міжнародної заявки на патент [WO 2017/152102 A2], повний зміст якої включений в даний опис як посилання. У деяких варіантах здійснення винаходу VL антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR1, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 9-27, представлених в [WO 2017/152102], послідовність CDR2, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 28-40, представлених в [2017/152102], і/або

послідовність CDR3, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 41-119, представлених в [WO 2017/152102]. В одному з варіантів здійснення винаходу VH антитіла до TREM-1 містить послідовність CDR1, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 120-143, представлених в [WO 2017/152102], послідовність CDR2, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 144-172, представлених в [WO 2017/152102], і/або послідовність CDR3, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 173-247, представлених в [WO 2017/152102].

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, містять послідовності CDR і/або варіабельних ділянок, ідентичні принаймні на 80 % (наприклад, ідентичні принаймні на 85 %, принаймні на 95 %, принаймні на 95 %, або принаймні на 99 %) послідовностей CDR і/або варіабельних ділянок антитіла mAb 0318.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містять варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH) і варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), які містять SEQ ID NO: 14 і SEQ ID NO: 15 відповідно. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містять важкий ланцюг (HC) і легкий ланцюг (LC), де HC містить SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52 або SEQ ID NO: 53. У деяких варіантах здійснення винаходу LC містить SEQ ID NO: 54.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, містять варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 396-475, представлених в [WO 2017/152102], і/або варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 316-395, представлених в [WO 2017/152102].

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг і легкий ланцюг містять амінокислотні послідовності, представлені в таблиці 7. У деяких варіантах здійснення винаходу, антитіло до TREM-1 містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 50, а легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 54. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 51, а легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 54. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 52, а легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 54. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 53, а легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 54.

Важкі і легкі ланцюги, які містять амінокислотну послідовність, яка принаймні на 99, 98, 97, 96, 95, 90, 85 або 80 % ідентична будь-якому з важких і легких ланцюгів, представлених в даному описі, наприклад, в SEQ ID NO: 50-54, можна застосовувати для створення антитіл до TREM-1, що мають необхідні характеристики, наприклад, такі, які представлені нижче в даному описі.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлене в даному описі, містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні на 80 %, принаймні на 85 %, принаймні на 90 %, принаймні на 95 %, принаймні на 96 %, принаймні на 97 %, принаймні на 98 %, принаймні на 99 або 100 % амінокислотній послідовності, представлений в SEQ ID NO: 50, 51, 52 або 53, і де легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні на 80 % принаймні на 85 %, принаймні на 90 %, принаймні на 95 %, принаймні на 96 %, принаймні на 97 %, принаймні на 98 %, принаймні на 99 або 100 % амінокислотній послідовності, представлений в SEQ ID NO: 54.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM1 містить константну ділянку важкого ланцюга, де константна ділянка важкого ланцюга містить одну або декілька амінокислотних замінів, вибраних з групи, яка складається з K214R, L234A, L235E, G237A, D356E, L358M і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містить константну ділянку важкого ланцюга, де константна ділянка важкого ланцюга містить одну або декілька амінокислотних замінів, вибраних з групи, яка складається з K214R, L234A, L235E, G237A, A330S, P331S, D356E, L358M і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містить константну ділянку важкого ланцюга, де константна ділянка важкого ланцюга містить одну або декілька амінокислотних замінів, вибраних з групи, яка складається з K214R, C226S, C229S, P238S і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містить константну ділянку важкого ланцюга, де константна ділянка важкого ланцюга містить одну або декілька амінокислотних замінів, вибраних з групи, яка складається з S131C, K133R, G137E,

G138S, Q196K, I199T, N203D, K214R, C226S, C229S, P238S і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація).

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність зв'язуватися з варіантами людського TREM-1 (наприклад, ізоформами 2 і 3 TREM-1, SEQ ID NO: 2 і SEQ ID NO: 3 відповідно) за даними оцінки, наприклад, методом поверхневого плазмонного резонансу. В іншому варіанті здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність зв'язуватися з TREM-1 мавп циномолгус (SEQ ID NO: 7) за даними оцінки, наприклад, методом поверхневого плазмонного резонансу.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, зв'язуються з людським TREM-1 з високою афінністю, наприклад, що характеризується величиною K_D , яка становить за даними оцінки за допомогою Biacore™ (наприклад, згідно з методом, описаним в розділі "Приклади") $10^{-7}M$ або менше, $10^{-8}M$ або менше, $10^{-9}M$ (1нМ) або менше, $10^{-10}M$ або менше, $10^{-11}M$ або менше, $10^{-12}M$ або менше, від $10^{-12}M$ до $10^{-7}M$, від $10^{-11}M$ до $10^{-7}M$, від $10^{-10}M$ до $10^{-7}M$ або від $10^{-9}M$ до $10^{-7}M$. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, зв'язуються з TREM-1 мавп циномолгус (супо), наприклад, з величиною K_D , яка становить за даними оцінки за допомогою Biacore™ (наприклад, згідно з методом, описаним в розділі "Приклади") $10^{-7}M$ або менше, $10^{-8}M$ або менше, $10^{-9}M$ або менше, $10^{-10}M$ або менше, $10^{-11}M$ або менше, $10^{-12}M$ або менше, від $10^{-12}M$ до $10^{-7}M$, від $10^{-11}M$ до $10^{-7}M$, від $10^{-10}M$ до $10^{-7}M$ або від $10^{-9}M$ до $10^{-7}M$.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла, представлені в даному описі, зв'язуються з тим же самим одним або тими ж самими декількома епітопами на TREM-1, що і антитіло mAb 0318. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність специфічно зв'язуватися з (I) принаймні одним амінокислотним залишком, вибраним з групи, яка складається з A21, T22, K23, L24, T25, E26 і будь-якої їх комбінації, і (II) принаймні одним амінокислотним залишком, вибраним з групи, яка складається з A49, S50, S51, Q52, K53, A54, W55, Q56, I57, I58, R59, D60, G61, E62, M63, P64, K65, T66, L67, A68, C69, T70, E71, R72, P73, S74, K75, N76, S77, H78, P79, V80, Q81, V82, G83, R84, I85 і будь-якої їх комбінації, і (III) принаймні одним амінокислотним залишком, вибраним з групи, яка складається з C113, V114, I115, Y116, Q117, P118, P119 і будь-якої їх комбінації, людського TREM-1 (наприклад, ізоформи 1, SEQ ID NO: 1) [див. WO 2016/009086].

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність специфічно зв'язуватися з амінокислотами з D38 по F48 із SEQ ID NO: 1 (людський TREM-1) за даними аналізу, наприклад, методом НХ-МС або дифракції в рентгенівських променях. У деяких варіантах здійснення винаходу епітоп для антитіла до TREM-1 містить один, два, три, чотири, п'ять, шість, сім або всі з амінокислотних залишків D38, V39, K40, C41, D42, Y43, T44 і L45 із SEQ ID NO: 1 (людський TREM-1) і один, два або всі з амінокислотних залишків, вибраних з групи, яка складається з E46, K47 і F48 із SEQ ID NO: 1 (людський TREM-1), за даними аналізу за допомогою, наприклад, НХ-МС або дифракції в рентгенівських променях. У конкретних варіантах здійснення винаходу епітоп для антитіла до TREM-1 містить один, два, три або всі з амінокислотних залишків, вибраних з групи, яка складається з D42, E46, D92 H93 із SEQ ID NO: 1 (людський TREM-1), за даними аналізу з використанням варіантів TREM-1 і методу поверхневого плазмонного резонансу.

В одному з варіантів здійснення винаходу епітоп для антитіла до TREM-1, представленого в даному описі, містить принаймні амінокислотні залишки E46 і/або D92 із SEQ ID NO: 1 (людський TREM-1) за даними аналізу з використанням варіантів TREM-1 і методу поверхневого плазмонного резонансу. В іншому варіанті здійснення винаходу епітоп для антитіла до TREM-1 містить один, два або всі з амінокислотних залишків, вибраних з групи, яка складається з L31, I86 і V101 із SEQ ID NO: 1 (людський TREM-1). У конкретних варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність специфічно зв'язуватися з поліпептидом, який містить амінокислотні залишки з E19 по L26 з TREM-1 мавп циномолгус (SEQ ID NO: 7), за даними аналізу, наприклад, методом НХ-МС або дифракції в рентгенівських променях.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність специфічно зв'язуватися з людським TREM-1, де епітоп для антитіла містить один, два, три, чотири, п'ять, шість, сім, вісім, дев'ять або всі з амінокислотних залишків, вибраних з групи, яка складається з V39, K40, C41, D42, Y43, L45, E46, K47, F48 і A49 із SEQ ID NO: 1.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність специфічно зв'язуватися з людським TREM-1, де епітоп для антитіла містить D42 із SEQ ID NO: 1. В інших варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має здатність специфічно зв'язуватися з людським TREM-1, де епітоп для антитіла містить E46 із SEQ ID NO: 1. У деяких варіантах

здійснення винаходу епітоп для антитіла може містити V39, C41, D42, Y43, L45 із SEQ ID NO: 1. У наступних варіантах здійснення винаходу епітоп для антитіла може містити E46, K47 і A49 із SEQ ID NO: 1. У конкретному варіанті здійснення винаходу епітоп для антитіла до TREM-1 може додатково містити F48 із SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має профіль в'язкості, подібний до профілю в'язкості антитіла mAb 0318. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, має в'язкість менш ніж 5 сП, менше ніж 4 сП, менше ніж 3 сП, менше ніж 2,5 сП, менше ніж 2,4 сП, менше ніж 2,3 сП, менше ніж 2,2 сП, менше ніж 2,1 сП, менше ніж 2 сП, менше ніж 1,9 сП, менше ніж 1,8 сП, менше ніж 1,7 сП, менше ніж 1,6 сП, менше ніж 1,5 сП, менше ніж 1,4 сП, менше ніж 1,3 сП, менше ніж 1,2 сП, менше ніж 1,1 сП, менше ніж 1,0 сП, менше ніж 0,9 сП, менше ніж 0,8 сП, менше ніж 0,7 сП, менше ніж 0,6 сП, менше ніж 0,5 сП, менше ніж 0,4 сП, менше ніж 0,3 сП, менше ніж 0,2 сП або менше ніж 0,1 сП при концентрації 80 мг/мл. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має в'язкість менше ніж 10 сП (наприклад, 9 сП) при концентрації 130 мг/мл.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, містить мутації, в результаті яких один або декілька негативно заряджених залишків в ділянках CDR1 і CDR3 легкого ланцюга антитіла замінені на незаряджені залишки. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 містить заміну одного або декількох з амінокислотних залишків D1, D30, D33, D74, D98, E27 і E97 із SEQ ID NO: 15 на амінокислотний залишок, вибраний з групи, яка складається з гліцину, аланіну, серину, аспарагіну, глутаміну, треоніну, цистеїну і тирозину. Ці мутації передбачені у даному описі як "які ховають заряд" мутації.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, містить мутації в ділянці взаємодії Fab-Fab, що має SEQ ID NO: 14, для зниження димеризації Fab-Fab. Раніше для антитіла mAb 0318 було встановлено, що, оскільки антитіла містять дві Fab, то, мультимеризація може впливати на в'язкість. Такі мутації позначають як мутації "Fab-Fab-взаємодії". У конкретних варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 містить мутацію, яка замінює будь-який один із залишків Y32, R52, S55, S56, N57, A59, M102, I104 і R106 із SEQ ID NO: 14 або F32, D33, Y34, Y53, R54 і D98 із SEQ ID NO 15 на амінокислотний залишок, вибраний з групи, яка складається з гліцину, аланіну, серину, аспарагіну, глутаміну, треоніну, цистеїну, лізину, аргініну, триптофану, гістидину і тирозину.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, містить мутацію в положенні 32 з SEQ ID NO: 15, в результаті якої фенілаланін замінений на амінокислоту, вибрану з наступних амінокислотних залишків: гліцин, серин, треонін, цистеїн, аланін, валін, лейцин, ізолейцин і метіонін. Застосування такої мутації базується на виявленні того факту, що заміна Ala в положенні Y90 із SEQ ID NO: 1 підвищує афінність SEQ ID NO: 3 до TREM-1. Було встановлено, що Y90 взаємодіє з таким, що являє собою фенілаланін, залишком SEQ ID NO: 15. Мутацію SEQ ID NO: 15, здійснювану для посилення взаємодії Fab-TREM-1, означають як мутація "Fab-TREM-1-взаємодії". У даному описі представлені антитіла до TREM-1, варіабельні ділянки яких зчеплені (наприклад, ковалентно зв'язані або злиті) з Fc, наприклад, Fc IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4, які можуть мати будь-який алотип або ізоалотип, наприклад, для IgG1: G1m, G1m1(a), G1m2(x), G1m3(f), G1m17(z); для IgG2: G2m, G2m23(n); для IgG3: G3m, G3m21(g1), G3m28(g5), G3m11(b0), G3m5(b1), G3m13(b3), G3m14(b4), G3m10(b5), G3m15(s), G3m16(t), G3m6(c3), G3m24(c5), G3m26(u), G3m27(v); і для K: Km, Km1, Km2, Km3 [див., наприклад, Jeffries та ін., mAbs 1, 2009, с. 1]. У деяких варіантах здійснення винаходу варіабельні ділянки антитіла до TREM-1, представлених в даному описі, зчеплені з Fc, що не має ефекторної функції або практично не має ефекторної функції, наприклад, IgG1. У деяких варіантах здійснення винаходу варіабельні ділянки антитіла до TREM-1 зчеплені з Fc, який характеризується зниженою здатністю до зв'язування або не має здатності до зв'язування з одним або декількома FcγR.

В одному з варіантів здійснення винаходу VH-домен антитіла до TREM-1, представленого в даному описі, може бути злитий з константним доменом людського IgG (тобто Fc), наприклад, IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4, який може зустрічатися в природних умовах або бути модифікованим, як, наприклад, додатково зазначено в даному описі. Наприклад, VH-домен може містити амінокислотну послідовність будь-якого VH-домену, представленого в даному описі, злику з константним доменом людського IgG, наприклад, IgG1, що має амінокислотну послідовність константного домену людського IgG1 дикого типу:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN

GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 9) або послідовність алотипового варіанту SEQ ID NO: 9, і має наступну
амінокислотну послідовність:

5 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10 (SEQ ID NO: 77; специфічні для алотипу амінокислотні залишки виділені жирним шрифтом і
підкреслені).

В одному з варіантів здійснення винаходу VH-домен антитіла до TREM-1, представленого в
даному описі, може містити амінокислотну послідовність будь-якого VH-домену, представленого
в даному описі, злику з константною ділянкою, що не має ефекторної функції, наприклад, з
наступними амінокислотними послідовностями такого, що не має ефекторної функції,
15 константного домену людського IgG1:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
20 NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 78; "IgG1.1f", що містить заміни L234A, L235E, G237A, A330S і P331S (EU-
нумерація, зазначені заміни підкреслені)

або

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
25 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
30 (SEQ ID NO: 79; "IgG1.3f", що містить заміни L234A, L235E і G237A (EU-нумерація, зазначені
заміни підкреслені).

Наприклад, алотиповий варіант IgG1 містить K97R, D239E і/або L241M (підкреслені і
виділені жирним шрифтом, див. вище), і їх нумерація відповідає нумерації SEQ ID NO: 77-79. У
повнорозмірній ділянці важкого ланцюга і відповідно до EU-нумерації зазначені амінокислотні
заміни мають наступні номери K214R, D356E L358M. У деяких варіантах здійснення винаходу
35 константна ділянка антитіла до TREM-1 додатково містить одну або декілька мутацій або замін
амінокислот L117, A118, G120, A213 і P214 (вище підкреслені), якщо вони пронумеровані як у
SEQ ID NO: 77-79, або L234, A235, G237, A330 і P331 відповідно до EU-нумерації. У таких
випадках здійснення винаходу константна ділянка антитіла до TREM-1 містить одну або
40 декілька мутацій або замін амінокислот L117A, A118E, G120A, A213S і P214S в SEQ ID NO: 77-
79 або з номерами L234A, L235E, G237A, A330S і P331S відповідно до EU-нумерації.
Константна ділянка антитіла до TREM-1 може містити також одну або декілька мутацій або
замін L117A, A118E і G120A в SEQ ID NO: 9 або L234A, L235E і G237A відповідно до EU-
нумерації.

У деяких варіантах здійснення винаходу VH-домен антитіла до TREM-1, представлених в
даному описі, містить амінокислотну послідовність будь-якого VH-домену, представленого в
даному описі, злитого з константним доменом IgG1, що містить наступні амінокислотні
послідовності:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTSPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDT
50 LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 11; "IgG1-Aba", яка містить заміни K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація),
які підкреслені); або

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTSPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
60 (SEQ ID NO: 12; "IgG4-Aba", яка містить заміни S131C, K133R, G137E, G138S, Q196K, I199T,

N203D, K214R, C226S, C229S і P238S (EU-нумерація), які підкреслені).

VL-домен, представлений у даному описі, може бути злитий з константним доменом людського легкого каппа- або лямбда-ланцюга. Наприклад, VL-домен антитіла до TREM-1 може містити амінокислотну послідовність будь-якого VL-домену, представленого в даному описі,

злиту з наступною амінокислотою послідовністю легкого каппа-ланцюга людського IgG1:
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

У конкретних варіантах здійснення винаходу константна ділянка важкого ланцюга містить на С-кінці лізин або іншу амінокислоту, наприклад, вона містить такі амінокислоти: LSPGK (SEQ ID NO: 48) в важкому ланцюзі. У конкретних варіантах здійснення винаходу в константній ділянці важкого ланцюга на С-кінці відсутні одна або декілька амінокислот, і вона має, наприклад, С-кінцеву послідовність LSPG (SEQ ID NO: 49) або LSP.

В одному з варіантів здійснення винаходу варіабельна ділянка антитіла до TREM-1 зчеплена з Fc, що не має ефекторної функції або практично не має ефекторної функції. У конкретних варіантах здійснення винаходу варіабельна ділянка антитіла до TREM-1 зчеплена з Fc, яка вибрана з групи, яка складається з IgG1.1f, IgG1.3f, IgG1-Aba і IgG4-Aba, представлених в даному описі.

Як правило, варіабельні ділянки, представлені в даному описі, можуть бути зчеплені з Fc, що містить одну або декілька модифікацій, здійснених, як правило, для зміни однієї або декількох функціональних властивостей антитіла, таких як зв'язування Fc-рецептора, вивільнення прозапальних цитокінів, час напіввиведення в сироватці, фіксація комплементу і/або антитілозалежна клітинна цитотоксичність. Крім того, антитіло, представлене в даному описі, може бути хімічно модифіковано (наприклад, до антитіла можуть бути приєднані один або декілька хімічних фрагментів) або модифіковано для зміни його глікозилювання, для зміни одного або декількох функціональних властивостей антитіла. Кожен з таких варіантів здійснення винаходу більш докладно описаний нижче. Нумерація залишків в Fc-ділянці відповідає EU-індексу Кебота.

Fc-ділянка включає домени, які походять з константної ділянки імуноглобуліну (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 і інших класів, таких як IgA, IgD, IgE і IgM), включаючи фрагмент, аналог, варіант, мутант або похідну константної ділянки. Константна ділянка імуноглобуліну являє собою такий поліпептид, що зустрічається в природних умовах або одержаний синтетичним шляхом, гомологічний С-кінцевій ділянці імуноглобуліну, і вона може включати CH1-домен, шарнір, CH2-домен, CH3-домен або CH4-домен окремо або в комбінації.

Молекули Ig взаємодіють з декількома класами клітинних рецепторів. Наприклад, молекули IgG взаємодіють з трьома класами Fcγ-рецепторів (FcγR), специфічних щодо антитіла IgG-класу, а саме, FcγRI, FcγRII і FcγRIII. Опубліковані дані про те, що послідовності, які мають важливе значення для зв'язування IgG з FcγR-рецепторами, локалізовані в CH2- і CH3-доменах. Здатність зазначеного антитіла до зв'язування з Fc-рецептором (FcR) впливає на час напіввиведення антитіла в сироватці.

В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-ділянка антитіла до TREM-1 являє собою варіант Fc-ділянки, наприклад, має послідовність Fc, яка модифікована (наприклад, шляхом амінокислотної заміни, делеції і/або інсерції) в порівнянні з батьківською послідовністю Fc (наприклад, немодифікованого поліпептиду Fc, який потім модифікують для створення варіанту) для забезпечення необхідних структурних характеристик і/або біологічної активності.

Наприклад, можна здійснювати модифікації в Fc-ділянці для створення варіанту Fc, який має (а) підвищену або знижену антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (ADCC), (б) підвищену або знижену комплемент-опосередковану цитотоксичність (CDC), (в) підвищену або знижену афінність до C1q і/або (г) підвищену або знижену афінність до Fc-рецептора в порівнянні батьківської Fc. Такі варіанти Fc-ділянки, як правило, повинні містити принаймні одну амінокислотну модифікацію в Fc-ділянці. Вважається, що особливо кращою є комбінація амінокислотних модифікацій. Наприклад, варіант Fc-ділянки може включати дві, три, чотири, п'ять і т.д. замін, наприклад, у вказаних у даному описі специфічних положеннях в Fc-ділянці.

Варіант Fc-ділянки може мати також зміну послідовності, в результаті чого амінокислоти, які беруть участь у формуванні дисульфідного зв'язку, видаляють або замінюють на інші амінокислоти. Таке видалення може дозволяти уникати взаємодії з іншими білками, які містять цистеїн, присутніми в клітині-хазяїні, яка застосовується для одержання антитіла до TREM-1, представленого в даному описі. Навіть в тому випадку, коли залишки цистеїну видалені, одноланцюгові Fc-домени все ще можуть формувати димерний Fc-домен, в якому вони присутні разом, за допомогою нековалентної взаємодії. В інших варіантах здійснення винаходу Fc-

ділянку можна модифікувати для її більшої сумісності з вибраною клітиною-хазяїном. Наприклад, можна видаляти РА-послідовність, присутню поблизу N-кінця типової нативної Fc-ділянки, яка може розпізнаватися травним ферментом в *E. coli*, таким як пролінспецифічна імунопептидаза. В інших варіантах здійснення винаходу можна видаляти один або декілька сайтів глікозилювання в Fc-домені. Залишки, які, як правило, глікозилюються (наприклад, аспарагін), можуть забезпечувати цитолітичну відповідь. Такі залишки можна видаляти або заміщати на неглікозилювані залишки (наприклад, аланін). В інших варіантах здійснення винаходу в Fc-ділянці можна видаляти сайти, які беруть участь у взаємодії з комплементом, такі як сайт зв'язування C1q. Наприклад, можна видаляти шляхом делеції або замінювати послідовність ЕКК людського IgG1. У конкретних варіантах здійснення винаходу можна видаляти сайти, які впливають на зв'язування з Fc-рецепторами, краще сайти, відмінні від сайтів зв'язування з рецептором реутилізації. В інших варіантах здійснення винаходу можна модифікувати Fc-ділянку з метою видалення ADCC-сайта. ADCC-сайти відомі в даній галузі; див., наприклад, Sarmay та ін., *Molec. Immunol.* 29 (5), 1992, сс. 633-639 щодо ADCC-сайтів в IgG1. Конкретні приклади варіантів Fc-доменів [описані, наприклад, в WO 97/34631 і WO 96/32478].

В одному з варіантів здійснення винаходу модифікують шарнірну ділянку Fc таким чином, щоб змінювати, наприклад, збільшувати або зменшувати, кількість залишків цистеїну в шарнірній ділянці. Цей підхід описаний детально в [U.S. № 5677425 на ім'я Bodmer та ін.] Кількість залишків цистеїну в шарнірній ділянці Fc змінюють, наприклад, для полегшення складання легкого і важкого ланцюгів або для підвищення або зниження стабільності антитіла. В одному з варіантів здійснення винаходу шарнірну ділянку Fc антитіла піддають мутації для зменшення біологічного часу напіввиведення антитіла. Більш конкретно, інтродукують одну або декілька амінокислотних мутацій в поверхню поділу CH2-CH3-домени шарнірного Fc-фрагмента таким чином, щоб у антитіла знизилася здатність до зв'язування білку A Staphylococcy (SpA) в порівнянні зі здатністю до зв'язування SpA антитіла, яке має нативний шарнірний фрагмент Fc. Цей підхід описаний більш детально в [U.S. № 6165745 на ім'я Ward та ін.]

У таких випадках здійснення винаходу Fc-ділянку змінюють шляхом заміни принаймні одного амінокислотного залишку на інший амінокислотний залишок для зміни ефektorної(их) функції(й) антитіла. Наприклад, можна замінювати одну або декілька амінокислот, вибраних з амінокислотних залишків 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320, 322, 330 і/або 331, на інший амінокислотний залишок таким чином, щоб антитіло мало змінену афінність до ефektorного ліганду, але зберігало антигензв'язуючу здатність батьківського антитіла. Ефektorний ліганд, афінність до якого змінюють, може являти собою, наприклад, Fc-рецептор або C1-компонент системи комплементу. Цей підхід описаний більш детально в [патентах U.S. № 5624821 і U.S. № 5648260, обидва на ім'я Winter та ін.]

В іншому прикладі можна замінювати одну або декілька амінокислот з числа амінокислотних залишків в положеннях 329, 331 і 322 на інший амінокислотний залишок таким чином, щоб змінювати здатність антитіла до зв'язування C1q і/або знизити комплементзалежну цитотоксичність (CDC) або елімінувати її. Цей підхід описаний більш детально в [U.S. № 6194551 на ім'я Idusogie та ін.]

В іншому прикладі можна замінювати один або декілька амінокислотних залишків в амінокислотних положеннях 231 і 239, щоб тим самим змінювати здатність антитіла до фіксації комплементу. Цей підхід описаний більш детально в публікації [PCT WO 94/29351 на ім'я Bodmer та ін.]

Ще в одному прикладі можна модифікувати Fc-ділянку для зменшення антитілозалежної клітинно-опосередкованої цитотоксичності (ADCC) і/або для зменшення афінності до Fcγ-рецептора шляхом модифікації однієї або декількох амінокислот в наступних положеннях: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 або 439. Приклади заміни включають 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D і 332E. Приклади варіантів включають 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T і 267E/268F/324T. Інші модифікації для посилення взаємодій з FcγR і комплементом включають (але не обмежуючись тільки ними) заміни 298A, 333A, 334A, 326A, 2471, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 3051 і 396L. Огляд цих та інших модифікацій представлений у [Strohl, *Current Opinion in Biotechnology* 20, 2009, сс. 685-691].

Іншими модифікаціями Fc, які можна здійснювати в Fc, є модифікації, призначені для

зниження або елімінації здатності до зв'язування з FcγR і/або білками системи комплементу, в результаті чого відбувається зниження або елімінація Fc-опосередковуваних ефекторних функцій, таких як ADCC, ADCP і CDC. Приклади модифікацій включають (але не обмежуючись тільки ними) заміни, інсерції і делеції в положеннях 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325, 328, 330 і/або 331 (наприклад, 330 і 331) (нумерація відповідає EU-індексу). Приклади замін включають (але не обмежуючись тільки ними) 234A, 235E, 236R, 237A, 267R, 269R, 325L, 328R, 330S і 331S (наприклад, 330S і 331S) (нумерація відповідає EU-індексу). Варіант Fc може містити 236R/328R. Інші модифікації, призначені для зменшення взаємодій з FcγR і комплементом, включають заміни 297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331 S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P і 234V, а також усунення глікозилювання в положенні 297 за допомогою мутацій або ферментативним шляхом, або за допомогою продукування в організмах, таких як бактерії, в яких не відбувається глікозилювання білків. Огляд цих та інших модифікацій представлений у [Strohl, Current Opinion in Biotechnology 20, 2009, сс. 685-691].

Не обов'язково Fc-ділянка може містити амінокислотний залишок, що не зустрічається в природних умовах в додаткових і/або альтернативних положеннях, відомих спеціалісту в даній галузі [див., наприклад, U.S. №№ 5624821; 6277375; 6737056; 6194551; 7317091; 8101720; публікації міжнародних заявок на патент WO 00/42072; WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 і WO 06/0201 14].

Афінності та здатність до зв'язування Fc-ділянки з її лігандом можна визначати за допомогою різних методів аналізу *in vitro* (біохімічних і імунологічних аналізів), відомих в даній галузі, включаючи (але не обмежуючись тільки ними) рівноважні методи (наприклад, твердофазний імуоферментний аналіз (ELISA) або радіоімуний аналіз (RIA)), або кінетичні (наприклад, BIACORE-аналіз) та інші методи, такі як непрямий аналіз зв'язування, аналіз конкурентного інгібування, резонансний перенос енергії флуоресценції (FRET), гель-електрофорез і хроматографія (наприклад, гель-фільтрація). У цих та інших методах можна використовувати мітку на одному або декількох компонентах, що підлягають дослідженню і/або застосовувати різні методи виявлення, включаючи (але не обмежуючись тільки ними) хромогенні, флуоресцентні, люмінесцентні або ізотопні мітки. Детальний опис питань, які стосуються афінності зв'язування і кінетики, представлено в [Fundamental immunology, 4-е вид., під ред. Paul W. E., вид-во Lippincott-Raven, Philadelphia, 1999], де основна увага сфокусована на взаємодіях антитіло-імуноген.

У конкретних варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, містять Fc, яка має знижену здатність або не має здатності до зв'язування з FcγR. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має знижену афінність зв'язування з FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32), FcγRIIB (CD32), FcγRIIIA (CD16a), FcγRIIIB (CD16b) або будь-яку їх комбінацію в порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 має афінність зв'язування з FcγRI (CD64), знижену принаймні в два рази, принаймні в три рази, принаймні в чотири рази, принаймні в п'ять разів, принаймні в шість разів, принаймні в сім разів, принаймні в вісім разів, принаймні в дев'ять разів або принаймні в 10 разів у порівнянні з антитілом, що містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 містять варіант Fc IgG1, який містить: (а) одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з L234A, L235E, G237A і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація); (б) одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з L234A, L235E, G237A, A330S, P331S і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація); (в) одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з K214R, C226S, C229S, P238S і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація); або (г) одну або декілька амінокислотних замін, вибраних з групи, яка складається з S131C, K133R, G137E, G138S, Q196K, I199T, N203D, K214R, C226S, C229S, P238S і будь-якої їх комбінації (EU-нумерація).

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, має (а) ізотип IgG1 і містить одну або декілька амінокислотних замін амінокислотного залишку в Fc-ділянці, вибраних з групи, яка складається з: N297A, N297Q, D270A, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, M252Y, S254T, T256E, , L328E, P238D, S267E, L328F, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R і будь-якої їх комбінації, де нумерація залишків відповідає EU-нумерації

або нумерації Кебота, або має амінокислотну делецію в Fc-ділянці в положенні, що відповідає гліцину 236; (б) ізотип IgG2 і містить одну або декілька амінокислотних замінів амінокислотного залишку в Fc-ділянці, вибраних з групи, яка складається з: P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E і
 5 будь-якої їх комбінації, де нумерація залишків відповідає EU-нумерації або нумерації Кебота; або (в) ізотип IgG4 і містить одну або декілька амінокислотних замінів амінокислотного залишку в Fc-ділянці, вибраних з групи, яка складається з: E233P, F234V, L234A/F234A, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q і будь-якої їх комбінації, де нумерація залишків відповідає EU-нумерації або нумерації Кебота. У деяких
 10 варіантах здійснення винаходу (а) Fc-ділянка додатково містить також одну або декілька амінокислотних замінів амінокислотного залишку, вибраних з групи, яка складається з A330L, L234F; L235E, P331S, і будь-якої їх комбінації, де нумерація залишків відповідає EU-нумерації або нумерації Кебота; (б) Fc-ділянка містить також одну або декілька додаткових амінокислотних замінів амінокислотного залишку, вибраних з групи, яка складається з M252Y, S254T, T256E, і
 15 будь-якої їх комбінації, де нумерація залишків відповідає EU-нумерації або нумерації Кебота; або (в) Fc-ділянка додатково містить амінокислотну заміну S228P, де нумерація відповідає EU-нумерації або нумерації Кебота [див. WO 2017/152102].

У конкретних варіантах здійснення винаходу вибирають Fc, що характеризується зниженою здатністю до фіксації комплементу. Прикладом Fc, наприклад, Fc IgG1, зі зниженою здатністю
 20 до фіксації комплементу є Fc, яка має такі дві амінокислотні заміни: A330S і P331S.

У конкретних варіантах здійснення винаходу вибирають Fc, яка практично не має ефекторної функції, тобто характеризується зниженою здатністю до зв'язування з FcγR і зниженою здатністю до фіксації комплементу. Прикладом Fc, наприклад, Fc IgG1, яка не має ефекторної функції, є Fc, яка містить наступні п'ять мутацій: L234A, L235E, G237A, A330S і
 25 P331S.

II. Фізичні властивості антитіл

Антитіла до TREM-1, наприклад, представлені в даному описі, мають деякі або всі фізичні характеристики специфічних антитіл до TREM-1, представлених в даному описі, такі як характеристики, описані в розділі "Приклади".

Сайти глікозилювання, перш за все присутні в варіабельних ділянках, можуть обумовлювати підвищену імуногенність антитіла або зміну значення рК антитіла внаслідок зміни зв'язування з антигеном [Marshall та ін., *Annu Rev Biochem* 41, 1972, сс. 673-702; Gala і Morrison, *J. Immunol* 172, 2004, сс. 5489-5494; Wallick та ін., *J Exp Med* 168, 1988, сс. 1099-1109; Spiro, *Glycobiology* 12, 2002, сс. 43R-56R; Parekh та ін., *Nature* 316, 1985, сс. 452-457; Mimura та ін., *Mol Immunol* 37, 2000, сс. 697-706]. Відомо, що глікозилювання відбувається в мотивах, які містять послідовність N-X-S/T. У деяких варіантах здійснення винаходу, антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, не мають взагалі або мають знижений рівень глікозилювання варіабельної ділянки. Це може бути досягнуто шляхом відбору антитіл, які не містять мотив глікозилювання в варіабельній ділянці, або шляхом мутації залишків в ділянці глікозилювання. Таким чином, у
 40 деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1, представлене в даному описі, є менш імуногенним в порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 54.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 не містять сайтів ізомеризації аспарагіну. Дезамінування аспарагіну може мати місце на послідовностях N-G або D-G, і воно приводить до утворення залишку ізоаспарагінової кислоти, який призводить до вигину поліпептидного ланцюга та зменшення його стабільності (ефект ізоаспарагінової кислоти).

Кожне антитіло має характеризуватися унікальною ізоелектричною точкою (pI), яка, як правило, знаходиться в діапазоні значень pH від 6 до 9,5. pI для антитіла IgG1-підкласу, як правило, знаходиться в діапазоні значень pH 7-9,5, а pI для антитіла IgG4-підкласу, як правило, знаходиться в діапазоні значень 6-8. Передбачається, що антитіла з pI, що знаходиться за межами нормального діапазону, можуть характеризуватися певним ступенем розгортки білку і нестабільністю в умовах *in vivo*. Так, антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можуть мати значення pI, яке знаходиться в нормальному діапазоні (наприклад, 8-9). Це може бути
 55 досягнуто або шляхом відбору антитіл зі значенням pI, що знаходяться в нормальному діапазоні, або за допомогою мутації заряджених залишків, які знаходяться на поверхні.

Кожне антитіло має мати характерну температуру плавлення, при цьому чим вище температура плавлення, тим більше загальна стабільність *in vivo* [Krishnamurthy R. і Manning M. С., *Curr Pharm Biotechnol* 3, 2002, сс. 361-371]. Як правило, T_m (температура початку розгортки)
 60 може бути вище 60 °C, вище 65 °C або вище 70 °C. У деяких варіантах здійснення винаходу

антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, мають більш високу температуру плавлення в порівнянні з антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленій в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленій в SEQ ID NO: 54. Таким чином, у деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, мають більш високу термостабільність у порівнянні з референс-антитілом, яке містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленій в SEQ ID NO: 76, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленій в SEQ ID NO: 54, за даними вимірювань, наприклад, за допомогою капілярного диференціального скануючого калориметра (CAP-DSC). Температуру плавлення антитіла можна вимірювати методом диференціальної скануючої калориметрії [Chen та ін., Pharm Res 20, 2003, сс. 1952-1960; Ghirlando та ін., Immunol Lett 68, 1999, сс. 47-52] або кругового дихроїзму [Murray та ін., J. Chromatogr Sci 40, 2002, сс. 343-349]. У деяких варіантах здійснення винаходу стан приблизно від 10 до 20 %, приблизно від 20 до 30 % (наприклад, 24 %) або приблизно від 30 до 40 % антитіла є оборотним при нагріванні до 77°C.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі не піддаються швидкій деградації. Деградацію антитіла можна оцінювати за допомогою капілярного електрофорезу (CE) і MALDI-MS [Alexander A.J. і Hughes D.E., Anal Chem 67, 1995, сс. 3626-3632].

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, характеризуються мінімальною здатністю до агрегації, яка може приводити до запуску небажаної імунної відповіді і/або до виникнення змінених або несприятливих фармакокінетичних властивостей. Як правило, антитіла є прийнятними при рівні агрегації 25 % або менше, 20 % або менше, 15 % або менше, 10 % або менше або 5 % або менше. Агрегацію можна оцінювати за допомогою декількох методів, включаючи гель-фільтрацію на колонках (SEC), рідинну хроматографію високої здатності (PXB3) і динамічне розсіювання світла (DLS). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, є мономерами за даними аналізу методом гель-фільтрації-рідинної хроматографії високої здатності (ГФ-ПХВЗ). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіла до TREM-1 характеризуються мінімальним ризиком фрагментації за даними оцінки методом двовимірної рідинної хроматографії-тандемної мас-спектрометрії (2D-PX/MS) або інтактного мас-спектрометричного аналізу методом рідинної хроматографії-тандемної мас-спектрометрії (PX/MS).

III. Нуклеїнові кислоти, вектори і клітини

Іншим об'єктом винаходу є молекули нуклеїнової кислоти, що кодують антитіла до TREM-1, представлені в даному описі. Нуклеїнові кислоти можуть бути присутніми в цільних клітинах, в клітинному лізаті або в частково очищеній або практично чистій формі. Нуклеїнова кислота вважається "виділеною" або "розглядається як практично чиста", якщо вона очищена від інших клітинних компонентів або інших домішок, наприклад, інших присутніх в клітині нуклеїнових кислот (наприклад, іншої хромосомній ДНК, наприклад, хромосомній ДНК, зчеплених в природних умовах з виділеною ДНК) або білків, за допомогою стандартних методів, включаючи обробку лугом/ДСН, CsCl-бендінг, хроматографію на колонках, обробку рестриктазами, електрофорез в агарозному гелі та інші добре відомі в даній галузі методи [див. Current Protocols in Molecular Biology, під ред. F. Ausubel та ін., вид-во Greene Publishing and Wiley Interscience, New York, 1987]. Нуклеїнова кислота, зазначена в даному описі, може являти собою, наприклад, ДНК або РНК, і може містити або може не містити інтрони послідовності. У деяких варіантах здійснення винаходу нуклеїнова кислота являє собою молекулу кДНК.

Нуклеїнові кислоти, представлені в даному описі, можна одержувати за допомогою стандартних методів молекулярної біології. Для антитіл, які експресуються гібридомами (наприклад, гібридомами, одержаними з використанням трансгенних мишей, які несуть гени людських імуноглобулінів, що більш детально описано нижче), кДНК, які кодують легкий і важкий ланцюги антитіла, що продукується гібридомою, можна одержувати за допомогою стандартної ПЛР-ампліфікації або методів клонування кДНК. Для антитіл, одержаних з бібліотеки генів імуноглобулінів (наприклад, за допомогою методів фагового дисплея), нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло, можна виділяти з бібліотеки.

У деяких варіантах здійснення винаходу нуклеїнові кислоти, представлені в даному описі, кодують послідовності VH і VL антитіл до TREM-1, представлених в даному описі. Приклади послідовностей ДНК, які кодують послідовності VH і VL, представлені в SEQ ID NO: 58-61 і SEQ ID NO: 62-65 відповідно.

Спосіб одержання антитіла до TREM-1, представленого в даному описі, може включати

здійснення експресії важких ланцюгів і легких ланцюгів в лінії клітин, які містять нуклеотидні послідовності, які кодують важкі і легкі ланцюги з сигнальним пептидом, наприклад, SEQ ID NO: 58-61 і SEQ ID NO: 62-65 відповідно. Клітини-хазяїни, які містять такі нуклеотидні послідовності, підпадають під обсяг даного винаходу.

Після одержання ДНК-фрагментів, які кодують сегменти VH і VL, зазначені ДНК-фрагменти можна піддавати додатковим маніпуляціям з допомогою стандартних методів рекомбінантних ДНК, наприклад, для перетворення генів варіабельної ділянки на гени повнорозмірного антитіла, на гени Fab-фрагмента або на ген scFv. При здійсненні цих маніпуляцій кодуючий VL або VH ДНК-фрагмент функціонально зв'язують з іншим ДНК-фрагментом, що кодує інший білок, такий як константна ділянка антитіла або гнучкий лінкер. У контексті даного опису мається на увазі, що поняття "функціонально зв'язаний" означає, що два ДНК-фрагмента з'єднані таким чином, щоб амінокислотні послідовності, які кодуються двома ДНК-фрагментами, залишалися в рамці зчитування.

Виділену ДНК, кодуючу VH-ділянку, можна перетворювати на ген повнорозмірного важкого ланцюга за допомогою функціонального зв'язку кодуючої VH ДНК з іншою молекулою ДНК, що кодує константні ділянки важкого ланцюга (шарнір, CH1, CH2 і/або CH3). Послідовності людських генів константної ділянки важкого ланцюга відомі в даній галузі [див., наприклад, Kabat E.A. та ін., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е вид., вид-во U.S. Department of Health and Human Services, публікація NIH № 91-3242, 1991] і ДНК-фрагменти, що включають ці ділянки, можна одержувати за допомогою стандартної ПЛР-ампліфікації. Константна ділянка важкого ланцюга може являти собою константну ділянку IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM або IgD, наприклад, константну ділянку IgG2 і/або IgG4. У випадку гена важкого ланцюга Fab-фрагмента кодуючу ДНК VH можна функціонально зв'язувати з іншою молекулою ДНК, що кодує тільки константну ділянку CH1 важкого ланцюга.

Виділену ДНК, кодуючу VL-ділянку можна перетворювати на ген повнорозмірного легкого ланцюга (а також на ген легкого ланцюга Fab) за допомогою функціонального зв'язку кодуючої ДНК VL з іншою молекулою ДНК, що кодує константну ділянку легкого ланцюга, CL. Послідовності людських генів константної ділянки легкого ланцюга відомі в даній галузі [див., наприклад, Kabat E.A. та ін., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е вид., вид-во U.S. Department of Health and Human Services, публікація NIH № 91-3242, 1991] і ДНК-фрагменти, які включають ці ділянки, можна одержувати за допомогою стандартної ПЛР-ампліфікації. Константна ділянка легкого ланцюга може являти собою константну ділянку каппа- або лямбда-ланцюга.

Іншим об'єктом даного винаходу є клітини (наприклад, клітини-хазяїни), які експресують (наприклад, рекомбінантно) антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, і відповідні полінуклеотиди і експресійні вектори. У даному описі представлені також вектори, які містять полінуклеотиди, які містять нуклеотидні послідовності, які кодують антитіла до TREM-1 або їх фрагмент. У деяких варіантах здійснення винаходу вектори можна застосовувати для здійснення рекомбінантної експресії антитіл до TREM-1, представлених в даному описі, в клітинах-хазяїнах, наприклад, в клітинах ссавців. У деяких варіантах здійснення винаходу вектори можна застосовувати для генної терапії.

Придатні відповідно до даного опису вектори включають експресійні вектори, вірусні вектори і плазмідні вектори. У деяких варіантах здійснення винаходу вектор являє собою вірусний вектор.

У контексті даного опису поняття "експресійний вектор" стосується будь-якої конструкції нуклеїнової кислоти, яка містить елементи, необхідні для транскрипції і трансляції вбудованої кодуючої послідовності, або в випадку вектора для вірусної РНК елементи, необхідні для реплікації і трансляції після інтродукції в відповідну клітину-хазяїна. Експресійні вектори можуть включати плазміди, фагміди, віруси і їх похідні.

Експресійні вектори, представлені в даному описі, можуть включати полінуклеотиди, які кодують антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, представлене/представлений у даному описі. У деяких варіантах здійснення винаходу кодуючі послідовності антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента функціонально зв'язані з послідовністю, яка контролює експресію. У контексті даного опису вважається, що дві нуклеотидні послідовності функціонально зв'язані, якщо вони ковалентно зв'язані таким чином, щоб для кожного компонента нуклеотидної послідовності забезпечувалося збереження його функціональності. Вважається, що кодуюча послідовність і контролююча генну експресію послідовність функціонально зв'язані, якщо вони ковалентно зв'язані таким чином, щоб експресія або транскрипція, і/або трансляція кодуючої послідовності перебувала під впливом або контролювалася послідовністю, яка контролює генну експресію. Вважається, що дві ДНК-

послідовності функціонально зв'язані, якщо індукція промотора в 5'-ділянці експресованої послідовності гена приводить до транскрипції кодуючої послідовності і якщо природа зв'язку між двома ДНК-послідовностями не приводить до (1) інтродукції мутації зсуву рамки зчитування, (2) не погіршує здатність промоторної ділянки контролювати транскрипцію кодуючої послідовності або (3) не погіршує здатність відповідного РНК-транскрипту транслюватися в білок. Так, експресована послідовність гена може бути функціонально зв'язана з кодуючою нуклеотидною послідовністю, якщо експресована послідовність гена здатна здійснювати транскрипцію зазначеної кодуючої нуклеотидної послідовності, в результаті чого одержаний транскрипт транслюється в потрібне антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент.

Вірусні вектори включають (але не обмежуючись тільки ними) нуклеотидні послідовності з наступних вірусів: ретровірус, такий як вірус мишачого лейкозу Молоні, вірус мишачої саркоми Харві, вірус мишачої пухлини молочної залози і вірус саркоми Рауса; лентивірус; аденовірус; аденоасоційований вірус; віруси типу SV40; поліомавіруси; віруси Епштейна-Барра; віруси папіломи; вірус герпесу; вірус коров'ячої віспи; поліовірус; і РНК-вірус, такий як ретровірус. Є прийнятним застосування інших векторів, добре відомих в даній галузі. Конкретні вірусні вектори засновані на нецитопатичних еукаріотичних вірусах, в яких не мають вирішального значення гени, замінені на ген, який представляє інтерес. Нецитопатичні віруси включають ретровіруси, життєвий цикл яких включає зворотну транскрипцію геномної вірусної РНК в ДНК з наступною провірусною інтеграцією в ДНК клітини-хазяїна. Ретровіруси дозволені для досліджень в терапії з використанням людських генів. Найбільш придатними є ретровіруси з дефіцитом реплікації (тобто вони здатні управляти синтезом необхідних білків, але не здатні продукувати інфекційну частинку). Такі генетично змінені ретровірусні експресійні вектори широко застосовують для здійснення високоефективної трансдукції генів *in vivo*. Стандартні протоколи одержання ретровірусів з дефіцитом реплікації (включаючи стадії вбудовування екзогенного генетичного матеріалу в плазмід, трансфекції плазмідом лінії пакувальних клітин, одержання рекомбінантних ретровірусів лінією пакувальних клітин, збір вірусних частинок з тканинного культурального середовища і інфікування клітин-мішеней вірусними частинками) представлені у [Kriegler M., Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, вид-во W.H. Freeman Co., New York, 1990 і Murry E. J., Methods in Molecular Biology, т. 7, вид-во Humana Press, Inc., Clifton, N.J., 1991].

У деяких варіантах здійснення винаходу вірус являє собою аденоасоційований вірус, вірус, який містить дволанцюгову ДНК. Аденоасоційований вірус можна конструювати таким чином, щоб він був вірусом з дефіцитом реплікації і був здатний інфікувати широкий спектр типів клітин і видів. Він має додаткові переваги, такі як термостабільність і стабільність в ліпідному розчиннику; високі частоти трансдукції в клітинах різних ліній, включаючи гематопоетичні клітини; і відсутність інгібування суперінфекції, що дозволяє здійснювати декілька серій трансдукції. Опубліковані дані про те, що аденоасоційований вірус може інтегруватися в ДНК людської клітини сайтспецифічним чином, що мінімізує можливість інсерційного мутагенезу і варіабельність характеристик експресії вбудованого гена при інфікуванні ретровірусом. Крім того, інфекції аденоасоційованого вірусу дикого типу в культурі тканини простежувалися протягом більш ніж 100 пересівань за відсутності селективного тиску, це свідчить про те, що інтеграція аденоасоційованого вірусу в геном є порівняно стабільною подією. Аденоасоційований вірус може функціонувати також поза хромосомою.

IV. Імунокон'югати

У даному описі представлені також імунокон'югати, які містять будь-які антитіла до TREM-1, представлені в даному описі. У деяких варіантах здійснення винаходу імунокон'югат містить антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, зчеплений з агентом. У деяких варіантах здійснення винаходу імунокон'югат містить біспецифічну молекулу, представлену в даному описі, зчеплену з агентом (наприклад, таким як терапевтичний агент або діагностичний агент).

Для діагностичних цілей придатними агентами є виявлені мітки, які включають радіоізотопи для візуалізації всього організму і радіоізотопи, ферменти, флуоресцентні мітки та інші придатні для антитіла мітки, які використовуються для аналізу зразків. Мітками, які виявляються, які можна зв'язувати з будь-яким антитілом до TREM-1, представленим в даному описі, можуть служити будь-які мітки з числа різних типів, які застосовуються в даний час в сфері діагностики *in vitro*, включаючи такі, що складаються з частинок мітки, в тому числі металеві золі, такі як колоїдне золото, ізотопи, такі як I125 або Tc⁹⁹, застосовувані, наприклад, з пептидним хелатуючим агентом типу N₂S₂, N₃S або N₄, хромофори, включаючи флуоресцентні маркери, люмінесцентні маркери, фосфоресцентні маркери і т.п., а також ферментні мітки, які перетворюють розглянутий субстрат на маркер, який виявляється, і полінуклеотидні мітки, які виявляють після ампліфікації, здійсненої, наприклад, за допомогою полімеразної ланцюгової

реакції. Придатні ферментні мітки включають пероксидазу з хрину, лужну фосфатазу і т.п. Наприклад, мітка може являти собою фермент лужну фосфатазу, яку виявляють шляхом оцінки присутності або генерування хемілюмінесценції після перетворення 1,2-діоксетанових субстратів, таких як адамантілметоксифосфорилоксибенілдіоксетан (AMPPD), динатрій-3-(4-метоксиспіро{1, 2-діоксетан-3,2'-(5'-хлор)трицикло{3.3.1.1 3,7}декан}-4-іл)фенілфосфат (CSPD), а також CDP і CDP-star® або інших люмінесцентних субстратів, добре відомих в даній галузі, наприклад, хелатів придатних лантанідів, таких як тербій (III) і європій (III). Засоби виявлення визначаються вибраною міткою. Виявлення мітки або продуктів її реакції можна здійснювати неозброєним оком в тому випадку, коли мітка складається з частинок і накопичується у відповідних кількостях, або з використанням інструментів, таких як спектрофотометр, люмінометр, флуориметр і т.п., у всіх випадках відповідно до стандартної практики.

У деяких варіантах здійснення винаходу методами кон'югації одержують зв'язки, які є практично (або майже) неімуногенними, наприклад, пептидні (тобто амідні), сульфідні, (стерично утруднені), дисульфідні, гідразонові зв'язки та зв'язки на основі простого ефіру. Ці зв'язки є практично неімуногенними і характеризуються прийнятною стабільністю в сироватці [див., наприклад, Senter P.D., Curr. Opin. Chem. Biol. 13, 2009, сс. 235-244; WO 2009/059278; WO 95/17886].

Залежно від біохімічної природи фрагмента і антитіла можна застосовувати різні стратегії кон'югації. У тому випадку, якщо фрагмент являє собою такий, що зустрічається в природних умовах або рекомбінантний фрагмент, що складається з 50-500 амінокислот, в підручниках з хімії синтезу білкових кон'югатів описані стандартні процедури, які легко може здійснювати спеціаліст в даній галузі [див., наприклад, Hackenberger C.P.R. і Schwarzer D., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 47, 2008, сс. 10030-10074]. У деяких варіантах здійснення винаходу застосовують взаємодію малеїнімідного фрагмента з залишком цистеїну, присутнім в антитілі або його фрагменті. Така взаємодія являє собою найбільш придатну реакцію хімічного сполучення в випадку застосування, наприклад, Fab- або Fab'-фрагмента антитіла. Альтернативно до цього у деяких варіантах здійснення винаходу здійснюють сполучення з С-кінцевою ділянкою антитіла або фрагмента. С-кінцеву модифікацію білка, наприклад, Fab-фрагмента, можна здійснювати відповідно до методу, [описаного у Sunbul M. і Yin J., Org. Biomol. Chem. 7, 2009, сс. 3361-3371].

В цілому, сайт-специфічна взаємодія і ковалентне сполучення базується на трансформації амінокислоти, яка зустрічається в природних умовах, на амінокислоту, реактивність якої ортогональна реактивності інших присутніх функціональних груп. Наприклад, конкретний цистеїн в контексті рідкісної послідовності можна ферментативно перетворювати на альдегід [див. Frese M. A. і Dierks T., ChemBioChem. 10, 2009, сс. 425-427]. Необхідну амінокислотну модифікацію можна створювати також шляхом використання специфічної ферментативної реактивності певних ферментів щодо амінокислоти, що зустрічається в природних умовах, в контексті розглянутої послідовності [див., наприклад, Taki M. та ін., Prot. Eng. Des. Sel. 17, 2004, сс. 119-126; Gautier A. та ін. Chem. Biol. 15, 2008, сс. 128-136; а каталізоване протеазою утворення С-N-зв'язків описано у Bordusa F., Highlights in Bioorganic Chemistry, 2004, сс. 389-403]. Сайт-специфічну взаємодію і ковалентне сполучення можна здійснювати також за допомогою селективної взаємодії кінцевих амінокислот з відповідними модифікуючими реагентами.

Для здійснення сайтспецифічного ковалентного сполучення можна використовувати реактивність N-кінцевого цистеїну щодо бензонітрилів [див. Ren H. та ін., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 48, 2009, сс. 9658-9662].

Нативне хімічне лігування може базуватися також на використанні С-кінцевих залишків цистеїну [Taylor E. Vogel; Imperiali B., Nucleic Acids and Molecular Biology, 22 (Protein Engineering), 2009, сс. 65-96].

В U.S. [№ 6437095] В1 описаний метод кон'югації, який базується на швидкій взаємодії цистеїну, присутнього в сегменті негативно заряджених амінокислот, з цистеїном, що знаходиться в сегменті позитивно заряджених амінокислот.

Фрагмент може являти собою також синтетичний пептид або пептидний міметик. У тому випадку, коли поліпептид синтезують хімічним шляхом, в процесі такого синтезу можна вбудовувати амінокислоти з ортогональною хімічною реактивністю [див., наприклад, de Graaf A.J. та ін., Biosconj. Chem. 20, 2009, сс. 1281-1295]. Оскільки в розпорядженні є велика різноманітність ортогональних функціональних груп і їх можна інтродуціювати в синтетичний пептид, то кон'югація такого пептиду з лінкером є стандартною хімічною процедурою.

Для одержання поліпептиду, який несе одну мітку, кон'югат з стехіометрією 1:1 можна відокремлювати від інших побічних продуктів кон'югації за допомогою хроматографії. Цю процедуру можна полегшувати шляхом застосування міченого барвником партнера по

спаровуванню і лінкера, який несе заряд. Шляхом застосування такого роду міченого партнера і такого, який несе великий негативний заряд партнера по спаровуванню, легко можна відокремлювати монокон'юговані поліпептиди від немічених поліпептидів і поліпептидів, які несуть більше одного лінкера, оскільки для розділення можна використовувати різницю в заряді і молекулярній масі. Для очищення комплексу від незв'язаних компонентів можна застосовувати флуоресцентний барвник, такий як мічений одновалентний зв'язуючий агент.

У деяких варіантах здійснення винаходу фрагмент, приєднаний до антитіла до TREM-1, вибирають з групи, яка складається зі зв'язуючого фрагмента, застосовуваного для мічення фрагмента і біологічно активного фрагмента.

Антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можна кон'югувати також з терапевтичним агентом для одержання імунокон'югату, такого як кон'югат антитіло-лікарський засіб (ADC). Придатні терапевтичні агенти включають антиметаболіти, алкілюючі агенти, агенти, які зв'язуються з малою борозенкою ДНК, ДНК-інтеркалятор, кросслінкери для ДНК, інгібітори гістондеацилази, інгібітори ядерного експорту, інгібітори протеасоми, інгібітори топоізомерази I або II, інгібітори білків теплового шоку, інгібітори тирозинкіназ, антибіотики і антимітотичні агенти. Для одержання ADC антитіло і терапевтичний агент краще кон'югують за допомогою розщеплюваного лінкера, такого як пептидильний, дисульфідний або гідразоновий лінкер. У деяких варіантах здійснення винаходу лінкер являє собою пептидильний лінкер, такий як Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val (SEQ ID NO: 80), Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser або Glu. ADC можна одержувати згідно з методом, [описаним в U.S. №№ 7087600; 6989452 і 7129261; публікаціях PCT WO 02/096910; WO 07/038658; WO 07/051081; WO 07/059404; WO 08/083312 і WO 08/103693; публікаціях патентів U.S. №№ 20060024317; 20060004081 і 20060247295].

Антитіла до TREM-1, наприклад, представлені в даному описі, можна застосовувати також для виявлення TREM-1, такого як людський TREM-1, наприклад, людський TREM-1, в тканинах або зразках тканини. Антитіла можна застосовувати, наприклад, в аналізі ELISA або аналізі методом проточної цитометрії. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 приводять у контакт з клітинами, наприклад, клітинами в тканині, протягом періоду часу, достатнього для здійснення специфічного зв'язування, і потім додають реагент, наприклад, антитіло, яке виявляє антитіло до TREM-1. Приклади аналізів представлені в розділі "Приклади". Антитіло до TREM-1 може являти собою повністю людське антитіло або воно може являти собою химерне антитіло, таке як антитіло, яке має людські варіабельні ділянки і мишачі константні ділянки або їх фрагменти. Приклади методів виявлення TREM-1, наприклад, людського TREM-1, в зразку (зразку клітини або тканини) включають (I) приведення зразка в контакт з антитілом до TREM-1 протягом періоду часу, достатнього для здійснення специфічного зв'язування антитіла до TREM-1 з TREM-1 в зразку, і (II) приведення зразка в контакт з реагентом для виявлення, наприклад, з антитілом, яке специфічно зв'язується з антитілом до TREM-1, наприклад, з Fc-ділянкою антитіла до TREM-1, для виявлення TREM-1, зв'язаного з антитілом до TREM-1. Після інкубації з антитілом і/або реагентом для виявлення можна застосовувати стадії промивки. Антитіла до TREM-1, які застосовуються в цих методах, не потребують зчеплення з міткою або агентами для виявлення, оскільки агент для виявлення можна застосовувати окремо.

Інші варіанти застосування антитіл до TREM-1, наприклад, в монотерапії або в комбінованій терапії, представлені нижче, наприклад, в розділі, присвяченому комбінованій обробці.

V. Біспецифічні молекули

Антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можна застосовувати для створення біспецифічних молекул. Антитіло до TREM-1 або його антигензв'язуючі фрагменти можна дериватизувати або зв'язувати з іншою функціональною молекулою, наприклад, іншим пептидом або білком (наприклад, іншим антитілом або лігандом для рецептора), для створення біспецифічної молекули, яка зв'язується принаймні з двома різними сайтами зв'язування або молекулами-мішенями. Наприклад, антитіло до TREM-1 можна зв'язувати з антитілом або scFv, яке/який специфічно зв'язується з будь-яким білком, який можна використовувати як потенційні мішені для комбінованих обробок, таких як білки, представлені в даному описі (наприклад, антитіла до IP-10 або TNF- α). Фактично антитіло, представлене в даному описі, можна дериватизувати або зв'язувати більш ніж з однією іншою функціональною молекулою для створення мультиспецифічних молекул, які зв'язуються більш ніж з двома різними сайтами зв'язування і/або молекулами-мішенями; мається на увазі, що такі мультиспецифічні молекули також підпадають під поняття "біспецифічна молекула", що використовується в даному описі. Для створення біспецифічної молекули, зазначеної в даному описі, антитіло, представлене в даному описі, можна функціонально зв'язувати (наприклад, за допомогою хімічного сполучення,

генетичного злиття, нековалентної асоціації або іншим чином) з однією або декількома іншими зв'язуючими молекулами, такими як інше антитіло, фрагмент антитіла, пептид або зв'язуючий міметик, з одержанням біспецифічної молекули.

Таким чином, в даному описі запропоновані біспецифічні молекули, які містять принаймні одну першу зв'язуючу специфічність для TREM-1 і другу зв'язуючу специфічність для другого епітопу-мішені. У деяких варіантах здійснення винаходу, представлених в даному описі, в яких біспецифічна молекула є мультиспецифічною, молекула може додатково мати третю зв'язуючу специфічність.

У деяких варіантах здійснення винаходу біспецифічні молекули, представлені в даному описі, перебувають у ролі зв'язуючої специфічності принаймні одне антитіло або фрагмент антитіла, включаючи, наприклад, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv або одноланцюговий Fv (scFv). Антитіло може являти собою також димер легкого ланцюга або важкого ланцюга, або будь-який мінімальний фрагмент, такий як Fv або одноланцюгова конструкція, [описана в U.S. 4946778 на ім'я Ladner та ін.]

Хоча кращими є моноклональні антитіла, в біспецифічних молекулах, представлених в даному описі, можна застосовувати і інші антитіла, такі як мишачі, химерні і гуманізовані моноклональні антитіла.

Біспецифічні молекули, представлені в даному описі, можна одержувати шляхом кон'югації зв'язуючих специфічностей, які входять до його складу, за допомогою методів, відомих в даній галузі. Наприклад, кожен зв'язуючу специфічність біспецифічної молекули можна створювати окремо і потім кон'югувати одна з одною. Коли зв'язуючі специфічності являють собою білки або пептиди, то для ковалентної кон'югації можна застосовувати різноманітні зв'язуючі або перехресно зшиваючі агенти. Приклади перехресно зшиваючих агентів включають білок А, карбодіімідів, N-сукцинімідил-S-ацетилтіоацетат (SATA), 5,5'-дитіобіс(2-нітробензойну кислоту) (DTNB), о-фенілендималеїмід (oPDM), N-сукцинімідил-3-(2-піридилтіо)пропіонат (SPDP) і сульфосукцинімідил-4-(N-малеїмідометил)циклогексан-1-карбоксилат (сульфо-SMCC) [див., наприклад, Karpovsky та ін., J. Exp. Med. 160, 1984, с. 1686; Liu M.A. та ін., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 1985, с. 8648]. Інші методи включають методи, [описані у Paulus, Behring Ins. Mitt. No. 78, 1985, сс. 118-132; Brennan та ін., Science 229, 1985, сс. 81-83 і у Glennie та ін., J. Immunol. 139, 1987, сс. 2367-2375]. Прикладами кон'югуючих агентів є SATA і сульфо-SMCC, обидві сполуки випускаються фірмою Pierce Chemical Co. [Рокфорд, шт. Іллінойс].

Коли зв'язуючі специфічності являють собою антитіла, їх можна кон'югувати за допомогою сульфгідрильного зв'язування C-кінцевих шарнірних ділянок двох важких ланцюгів. У деяких варіантах здійснення винаходу шарнірну ділянку модифікують таким чином, щоб вона до кон'югації містила непарну кількість (краще один) сульфгідрильних залишків.

В альтернативному варіанті обидві специфічності зв'язування можна кодувати в одному і тому ж векторі і здійснювати їх експресію і збірку в одній і тій же клітині-хазяїні. Цей метод найбільш придатний в тому випадку, коли біспецифічна молекула являє собою злитий білок типу МАТ×МАТ, МАТ×Fab, МАТ×(scFv)₂, Fab×F(ab')₂ або ліганд×Fab. Біспецифічне антитіло може містити антитіло, що містить scFv на C-кінці кожного важкого ланцюга. Біспецифічна молекула, представлена в даному описі, може являти собою одноланцюгову молекулу, яка містить одноланцюгове антитіло і зв'язуючу детермінанту або одноланцюгову біспецифічну молекулу, яка містить дві зв'язуючі детермінанти. Біспецифічні молекули можуть містити принаймні дві одноланцюгові молекули. Методи одержання біспецифічних молекул описані, наприклад, в [U.S. № 5260203; U.S. № 5455030; U.S. № 4881175; U.S. № 5132405; U.S. № 5091513; U.S. № 5476786; U.S. № 5013653; U.S. № 5258498 і U.S. № 5482858].

Зв'язування біспецифічних молекул з їх специфічними мішенями можна підтверджувати за допомогою відомих в даній галузі методів, таких як твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA), радіоімуний аналіз (RIA), FACS-аналіз, біоаналіз (наприклад, аналіз інгібування росту) або аналіз методом вестерн-блоттинга. Кожен з цих аналізів дозволяє виявляти присутність комплексів білок-антитіло, що представляють особливий інтерес, шляхом застосування міченого реагенту (наприклад, антитіла), специфічного щодо комплексу, що представляє інтерес.

VI. Набори

У даному описі запропоновані набори, які містять одне або декілька антитіл до TREM-1, представлених в даному описі, або їх антигензв'язуючі фрагменти, біспецифічні молекули або їх імунокон'югати. У деяких варіантах здійснення винаходу, запропонована/запропонований фармацевтична упаковка або набір, яка містить/який містить один або декілька контейнерів, заповнених одним або декількома інгредієнтами фармацевтичних композицій, представлених в даному описі, такими як одне або декілька антитіл, представлених в даному описі, або їх

антигензв'язуючі фрагменти, необов'язково інструкції по застосуванню. У деяких варіантах здійснення винаходу набори містять фармацевтичну композицію, представлену в даному описі, і будь-який профілактичний або терапевтичний засіб, наприклад, представлений в даному описі.

5 VII. Композиції та препаративні форми

У даному описі запропоновані також композиції (наприклад, фармацевтичні композиції) і препаративні форми, які містять одне або декілька антитіл до TREM-1 (включаючи полінуклеотиди, вектори і клітини, які кодують і/або експресують антитіла до TREM-1), представлених в даному описі. Наприклад, в одному з варіантів здійснення винаходу

10 запропонована фармацевтична композиція, яка містить одне або декілька антитіл до TREM-1, представлених в даному описі, включених в препаративну форму разом з фармацевтично прийнятним носієм.

У контексті даного опису поняття "фармацевтично прийнятний носій" включає будь-який і всі розчинники, дисперсійні середовища, покриття, антибактеріальні і протигрибкові агенти, агенти для додання ізотонічності і уповільнення абсорбції і т.п., які є фізіологічно сумісними. У деяких

15 варіантах здійснення винаходу носій придатний для внутрішньовенного, внутрішньом'язового, підшкірного, парентерального, спинального або епідермального введення (наприклад, шляхом ін'єкції або інфузії). Залежно від шляху введення на активну сполуку, тобто антитіло, імунокон'югат або біспецифічну молекулу, може бути нанесено покриття з матеріалу, що захищає сполуку від дії кислот або інших умов навколишнього середовища, які інактивують сполуку.

20

Отже, однією з цілей даного винаходу є створення фармацевтичної препаративної форми, яка підвищує стабільність антитіла до TREM-1 і тим самим забезпечує його тривале зберігання. У деяких варіантах здійснення винаходу фармацевтична препаративна форма, представлена в

25 даному описі, містить: (а) антитіло до TREM-1; (б) забуферюючий агент; (в) стабілізатор; (г) сіль; (д) наповнювач і/або (е) поверхнево-активну речовину. У деяких варіантах здійснення винаходу фармацевтична препаративна форма зберігає стабільність протягом принаймні 1 місяця, принаймні 2 місяців, принаймні 3 місяців, принаймні 6 місяців, принаймні 1 року, принаймні 2 років, принаймні 3 років, принаймні 5 років або більше. У деяких варіантах здійснення винаходу препаративна форма зберігає стабільність при зберіганні при 4 °C, 25 °C

30 або 40 °C.

Забуферюючий агент

Забуферюючі агенти, які можна застосовувати відповідно до даного винаходу, можуть являти собою слабку кислоту або основу, яка використовується для підтримки рівня кислотності (рН) розчину, близького до вибраного значення, після додавання іншої кислоти або основи. Придатні забуферюючі агенти можуть підвищувати до максимуму стабільність фармацевтичних препаративних форм за допомогою підтримки контрольного значення рН препаративної форми. Придатні забуферюючі агенти дозволяють також забезпечувати фізіологічну сумісність або оптимізувати розчинність. Реологічні характеристики, в'язкість і інші властивості також можуть

40 залежати від значення рН препаративної форми. Звичайні забуферюючі агенти включають (але не обмежуючись тільки ними) гістидин, цитрат, сукцинат, ацетат і фосфат. У деяких варіантах здійснення винаходу забуферюючий агент містить гістидин (наприклад, L-гістидин) з агентами, які забезпечують ізотонічність і може регулювати значення рН за допомогою кислоти або основи, відомої в даній галузі. У конкретних варіантах здійснення винаходу забуферюючий агент являє собою L-гістидин. У конкретних варіантах здійснення винаходу значення рН композиції підтримують на рівні від приблизно 2 до приблизно 10 або від приблизно 4 до приблизно 8.

45

Стабілізатор

Стабілізатори додають до фармацевтичного продукту для стабілізації зазначеного продукту. Такі агенти можуть забезпечувати стабілізацію білків численними різними шляхами. Звичайні стабілізатори включають (але не обмежуючись тільки ними) амінокислоти, такі як гліцин, аланін, лізин, аргінін або треонін, вуглеводи, такі як глюкоза, цукроза, трегалоза, рафіноза або мальтоза, поліоли, такі як гліцерин, маніт, сорбіт, циклодекстрини або декстрини будь-якого типу, які мають одну молекулярну масу, або ПЕГ. В одному з об'єктів винаходу стабілізатор

50 вибирають для підвищення до максимуму стабільності поліпептиду FIX в ліофілізованих препаратах. У конкретних варіантах здійснення винаходу стабілізатор являє собою цукрозу і/або аргінін.

55

Наповнювач

Наповнювачі можна додавати до фармацевтичного продукту для збільшення об'єму і маси продукту, полегшуючи тим самим здійснення точного дозування і маніпуляцій з ним. Звичайні

60

наповнювачі включають (але не обмежуючись тільки ними) лактозу, цукрозу, глюкозу, маніт, сорбіт, карбонат кальцію або стеарат магнію.

Поверхнево-активна речовина

Поверхнево-активні речовини являють собою амфіпатичні субстанції, які мають ліофільні і ліофобні групи. Поверхнево-активна речовина може бути аніонною, катіонною, цвіттеріонною або неіонною. Приклади неіонних поверхнево-активних речовин включають (але не обмежуючись тільки ними) алкілетоксилат, нонілфенолетоксилат, амінетоксилат, поліетиленоксид, поліпропіленоксид, жирні спирти, такі як цетиловий спирт або олеїловий спирт, кокамід MEA, кокамід DEA, полісорбати або додецилдиметиламіноксид. У деяких варіантах здійснення винаходу поверхнево-активна речовина являє собою полісорбат 20 або полісорбат 80.

У деяких варіантах здійснення винаходу фармацевтична препаративна форма, представлена в даному описі, містить:

(а) антитіло до TREM-1 в концентрації приблизно від 0,25 мг/мл до 250 мг/мл (наприклад, від 10 до 200 мг/мл);

(б) гістидин в концентрації приблизно 20мМ;

(в) цукрозу в концентрації приблизно 150мМ;

(г) аргінін в концентрації приблизно 25мМ; і

(д) NaCl в концентрації приблизно 50мМ.

Препаративна форма може додатково містити одну або декілька забуферюючих систем, консервант, агент, який регулює тонічність, хелатуючий агент, стабілізатор і поверхнево-активну речовину, а також різні їх комбінації. Застосування консервантів, агентів, які забезпечують ізотонічність, хелатуючих агентів, стабілізаторів і/або поверхнево-активних речовин у фармацевтичних препаративних формах добре відомо спеціалісту в даній галузі [див. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19-е вид., 1995].

У деяких варіантах здійснення винаходу фармацевтична препаративна форма являє собою водну препаративну форму. Така препаративна форма, як правило, являє собою розчин або суспензію, але може включати також колоїди, дисперсії, емульсії і багатофазні продукти. Поняття "водна препаративна форма" означає препаративну форму, яка містить принаймні 50 мас. % води. Аналогічно цьому поняття "водний розчин" означає розчин, який містить принаймні 50 мас. % води, а поняття "водна суспензія" означає суспензію, яка містить принаймні 50 мас. % води.

У деяких варіантах здійснення винаходу фармацевтична препаративна форма являє собою висушену заморожуванням препаративну форму, до якої лікуючий лікар або пацієнт додає розчинники і/або розріджувачі перед застосуванням.

Фармацевтичні композиції, представлені в даному описі, можна вводити в рамках комбінованої терапії, тобто, в комбінації з іншими агентами. Наприклад, комбінована терапія може включати застосування антитіла до TREM-1, представленого в даному описі, в комбінації принаймні з одним іншим терапевтичним агентом. Приклади терапевтичних агентів, які можна застосовувати в комбінованій терапії, можуть включати інші сполуки, лікарські засоби і/або агенти, які застосовуються для лікування захворювання або порушення (наприклад, запального порушення). Такі сполуки, лікарські засоби і/або агенти можуть включати, наприклад, протизапальні лікарські засоби або антитіла, які блокують або знижують продукування прозапальних цитокінів. У деяких варіантах здійснення винаходу терапевтичні агенти можуть включати антитіло до IP-10, антитіло до TNF- α (наприклад, адалімумаб (HUMIRA®), голімумаб (SIMPONI®), інфліксимаб (REMICADE®), цертолізумаба пегол (CIMZIA®)), інтерферон бета-1a (наприклад, AVONEX®, REBIF®), інтерферон бета-1b (наприклад, BETASERON®, EXTAVIA®), глатирамера ацетат (наприклад, COPAXONE®, GLATOPA®), мітоксантрон (наприклад, NOVANTRONE®), нестероїдні протизапальні лікарські засоби (НСПВЗ), анальгетики, кортикостероїди та їх комбінації.

Фармацевтичні сполуки, представлені в даному описі, можуть включати одну або декілька фармацевтично прийнятних солей. Поняття "фармацевтично прийнятна сіль" стосується солі, яка зберігає необхідну біологічну активність батьківської сполуки і не чинить ніяких небажаних токсикологічних дій [див., наприклад, Berge S.M. та ін., J. Pharm. Sci. 66, 1977, сс. 1-19]. Приклади таких солей включають кислотно-адитивні солі і солі приєднання основ. Кисотно-адитивні солі включають солі, утворені з нетоксичних неорганічних кислот, таких як соляна, азотна, фосфорна, сірчана, бромистоводнева, йодистоводнева, фосфориста кислота і т.п., а також з нетоксичних органічних кислот, таких як аліфатичні моно- і дикарбонові кислоти, фенілзамещені алканові кислоти, гідроксіалканові кислоти, ароматичні кислоти, аліфатичні і ароматичні сульфонові кислоти і т.п. Солі приєднання основ включають солі, утворені з

лужноземельних металів, таких як натрій, калій, магній, кальцій і т.п., а також з нетоксичних органічних амінів, таких як N,N'-дибензилетилендіамін, N-метилглюкамін, хлорпрокаїн, холін, діетаноламін, етилендіамін, прокаїн і т.п.

5 Фармацевтична композиція, представлена в даному описі, може включати також фармацевтично прийнятний антиоксидант. Приклади фармацевтично прийнятних антиоксидантів включають: (1) водорозчинні антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота, гідрохлорид цистеїну, бісульфат натрію, метабісульфіт натрію, сульфат натрію і т.п.; (2) жиророзчинні антиоксиданти, такі як аскорбілпальмітат, бутильований гідроксіанізол (BHA), бутильований гідрокситолуол (BHT), лецитин, пропілгалат, альфа-токоферол і т.п.; і (3) метал-хелатуючі агенти, такі як лимонна кислота, етилендіамінтетраоцтова кислота (EDTA), сорбіт, винна кислота, фосфорна кислота і т.п.

10 Приклади придатних водних і неводних носіїв, які можна застосовувати в фармацевтичних композиціях, представлених в даному описі, включають воду, етанол, поліоли (такі як гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленгліколь і т.п.) і придатні їх суміші, рослинні масла, такі як оливкове масло, і придатні для ін'єкцій органічні складні ефіри, такі як етилолеат. Необхідну текучість можна підтримувати, наприклад, шляхом застосування придатних матеріалів для покриттів, таких як лецитин, шляхом підтримки необхідного розміру частинок у випадку дисперсії і шляхом застосування поверхнево-активних речовин.

20 Такі композиції можуть містити також ад'юванти, такі як консерванти, змочуючі речовини, емульгатори і диспергатори. Попередження присутності мікроорганізмів можна забезпечувати за допомогою процедур стерилізації (див. вище) і шляхом включення різних антибактеріальних і протигрибкових агентів, таких як, наприклад, парабен, хлорбутанол, фенол, сорбінова кислота і т.п. Може виявитися доцільним включати в композиції агенти для додання ізотонічності, таких як цукри, хлорид натрію і т.п. Крім того, можна забезпечувати пролонговану абсорбцію фармацевтичної форми, що ін'єкується шляхом застосування агентів, які уповільнюють абсорбцію, таких як моностеарат алюмінію і желатин.

25 Фармацевтично прийнятні носії включають стерильні водні розчини або дисперсії і стерильні порошки для приготування призначених для негайного введення стерильних розчинів або дисперсій, які ін'єктуються. Застосування таких середовищ і агентів для фармацевтично активних субстанцій відомо в даній галузі. Передбачається їх застосування в фармацевтичних композиціях за винятком випадків, коли будь-яке/будь-який або середовище або агент є несумісним з діючою речовиною. Фармацевтична композиція може містити консервант або консервант може бути відсутнім. У композицію можуть бути включені додаткові діючі речовини.

30 Терапевтичні композиції, як правило, повинні бути стерильними і стабільними в умовах продукування і зберігання. Композиція може бути приготована в формі розчину, мікроемульсії, ліпосоми або іншої впорядкованої структури, придатної для включення лікарського засобу у високій концентрації. Носій може являти собою розчинник або дисперсійне середовище, що містить, наприклад, воду, етанол, поліол (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь і рідкий поліетиленгліколь тощо) і їх придатні суміші. Необхідну текучість можна підтримувати, наприклад, шляхом застосування матеріалів придатних для покриттів, таких як лецитин, шляхом підтримки необхідного розміру частинок у випадку дисперсій і шляхом застосування поверхнево-активних речовин. У багатьох випадках композиції можуть включати агенти для додання ізотонічності, наприклад, цукри, багатоатомні спирти, такі як маніт, сорбіт або хлорид натрію. Пролонговану абсорбцію композицій, які ін'єктуються, можна забезпечувати шляхом включення в композицію агента, який уповільнює абсорбцію, наприклад, моностеаратів і желатину.

35 Стерильні розчини для ін'єкцій можна готувати шляхом включення діючої речовини в необхідній кількості у відповідний розчинник при необхідності разом з одним інгредієнтом або комбінацією інгредієнтів, перерахованих вище, і наступної стерилізації за допомогою мікрофільтрації. Як правило, дисперсії готують шляхом включення діючої речовини в стерильний наповнювач, який містить основне дисперсійне середовище і необхідні інші інгредієнти з числа перерахованих у даному описі. У випадку стерильних порошків, призначених для приготування стерильних розчинів для ін'єкцій, прикладами методів приготування є вакуумна сушка та сушка виморожуванням (ліофілізація), які дозволяють одержувати порошок діючої речовини плюс будь-якого додаткового необхідного інгредієнта з попередньо простерилізованого фільтрацією розчину, який їх містить.

40 Кількість діючої речовини, яку можна поєднувати з матеріалом носія для одержання лікарської форми з одноразовою дозою, має варіюватися з огляду на індивідуума, який підлягає лікуванню, і конкретного шляху введення. Кількість діючої речовини, яку можна поєднувати з матеріалом носія для одержання лікарської форми з одноразовою дозою, як правило, має

являти собою кількість композиції, яка має терапевтичну дію. Як правило, ця кількість, за винятком випадку, коли вона становить 100 %, може варіюватися в межах від приблизно 0,01 % до приблизно 99 % діючої речовини, від приблизно 0,1 % до приблизно 70 % або від приблизно 1 % до приблизно 30 % діючої речовини, що входить в комбінацію з фармацевтично прийнятним носієм.

Режими дозування регулюють для забезпечення оптимальної необхідної відповіді (наприклад, терапевтичної відповіді). Наприклад, можна вводити одноразову болюсну дозу, можна вводити декілька розділених доз протягом певного проміжку часу або дозу можна пропорційно зменшувати або збільшувати, як в випадку гострої необхідності, обумовленої терапевтичною ситуацією. Найкраще готувати парентеральні композиції у вигляді стандартної лікарської форми для простоти введення і забезпечення однаковості доз. У контексті даного опису поняття "стандартна лікарська форма" стосується фізично дискретних одиниць, придатних як одиничні дози для індивідуумів, які підлягають лікуванню; де кожна одиниця містить діючу речовину в заздалегідь визначеній кількості, яка розрахована для досягнення необхідної терапевтичної дії, в асоціації з необхідним фармацевтичним носієм. Специфікація стандартних лікарських форм, представлених в даному описі, диктується і прямо пов'язана з (а) унікальними характеристиками діючої речовини і конкретною терапевтичною дією, яку потрібно досягти, і (б) обмеженнями, які існують в галузі рецептур з використанням діючої речовини для лікування чутливих індивідуумів.

Для введення антитіла до TREM-1, наприклад, представленого в даному описі, застосовують дози, які знаходяться в межах від приблизно 0,0001 до 100 мг/кг і більше, як правило, від 0,01 до 5 або 10 мг/кг маси тіла хазяїна. Наприклад, дози можуть становити 0,3 мг/кг маси тіла, 1 мг/кг маси тіла, 3 мг/кг маси тіла, 5 мг/кг маси тіла або 10 мг/кг маси тіла, або можуть знаходитися в межах 1-10 мг/кг. Приклади режимів обробки включають введення один раз на тиждень, один раз кожні два тижні, один раз кожні три тижні, один раз кожні чотири тижні, один раз на місяць, один раз кожні 3 місяці або один раз кожні 3-6 місяців. Приклади режимів дозування антитіла до TREM-1, представленого в даному описі, включають внутрішньовенне введення в дозі 1 мг/кг маси тіла або 3 мг/кг маси тіла, де антитіло вводять з використанням однієї з наступних схем дозування: (I) кожні чотири тижні, здійснюючи шість введень дози, потім кожні три місяці; (II) кожні три тижні; (III) одноразово в дозі 3 мг/кг маси тіла, потім в дозі 1 мг/кг маси тіла кожні три тижні.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 вводять в постійній дозі (режим постійного дозування). В інших варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 вводять у фіксованій дозі з іншим антитілом. У конкретних варіантах здійснення винаходу антитіло до TREM-1 вводять в дозі, яка розрахована на основі маси тіла.

У деяких методах вводять одночасно два або декілька моноклональних антитіл з різними зв'язуваними специфічностями, в цьому випадку доза кожного введеного антитіла знаходиться в зазначених діапазонах. Антитіло, як правило, вводять декілька разів. Інтервали між введеннями окремих доз можуть становити, наприклад, один тиждень, один місяць, три місяці або один рік. Інтервали можуть бути також нерівномірними і їх можна визначати в залежності від виміряних рівнів антитіла до антигену-мішені в крові пацієнта. У деяких методах дозу регулюють до досягнення концентрації антитіла в плазмі, що становить приблизно 1-1000 мкг/мл, а в деяких методах приблизно 25-300 мкг/мл.

Антитіло можна вводити в складі препаративної форми з пролонгованим вивільненням, в цьому випадку потрібно менш часте введення. Доза і частота введення варіюються в залежності від часу напіввиведення антитіла в організмі пацієнта. В цілому, найбільш тривалим часом напіввиведення характеризуються людські антитіла, за ними йдуть гуманізовані антитіла, химерні антитіла і нелюдські антитіла. Доза і частота введення можуть варіюватися в залежності від того, чи є лікування профілактичним чи терапевтичним. У випадку профілактичних застосувань вводять відносно низьку дозу з відносно рідкісними інтервалами протягом тривалого періоду часу. Деякі пацієнти продовжують одержувати лікування протягом всього життя. У випадку терапевтичних застосувань іноді потрібне введення відносно високої дози з відносно короткими інтервалами до зниження або припинення прогресування захворювання і до тих пір, поки у пацієнта не відбудеться часткове або повне поліпшення симптомів захворювання. Після цього пацієнта можна переводити на профілактичний режим.

Фактичні рівні доз діючих речовин у фармацевтичних композиціях, представлених в даному описі, можна варіювати таким чином, щоб одержувати кількість діючої речовини, ефективну для досягнення необхідної терапевтичної відповіді для конкретного пацієнта при застосуванні зазначеної композиції та шляху введення, але не токсичну для пацієнта. Вибраний рівень доз повинен залежати від різних фармакокінетичних факторів, включаючи активність конкретних

застосовуваних композицій, представлених в даному описі, або їх складного ефіру, солі або аміду, шляху введення, часу введення, швидкості екскреції конкретної застосовуваної сполуки, тривалості лікування, інших лікарських засобів, сполук і/або продуктів, які застосовуються в комбінації з конкретними застосовуваними композиціями, віку, статі, маси тіла, стану, загального стану здоров'я і попередньої історії хвороби пацієнта, який підлягає лікуванню, і подібних факторів, добре відомих в галузі медицини.

Композицію, представлену в даному описі, можна вводити за допомогою одного або декількох шляхів введення з використанням одного або декількох з різноманітних методів, відомих в даній галузі. Як повинно бути очевидно спеціалісту в даній галузі, шлях і/або форма введення повинні варіюватися в залежності від необхідних результатів. Шляхи введення антитіл до TREM-1, представлених в даному описі, можуть включати внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, внутрішньошкірний, внутрішньочеревний, підшкірний, спинальний або інші парентеральні шляхи введення, наприклад ін'єкцію або інфузію. Поняття "парентеральне введення" в контексті даного опису означає шляхи введення, відмінні від ентерального і місцевого введення, як правило, введення шляхом ін'єкції, і включає (але не обмежуючись тільки ними) внутрішньовенну, внутрішньом'язову, внутрішньоартеріальну, внутрішньооболонкову, інтракапсулярну, внутрішньоочну, внутрішньосерцеву, внутрішньошкірну, внутрішньочеревну, транстрахеальну, підшкірну, субкутікулярну, внутрішньосуглобову, субкапсулярну, субарахноїдальну, інтраспінальну, епідуральну та інтрастернальну ін'єкцію і інфузію.

Альтернативно до цього антитіло, представлене в даному описі, можна вводити непарентеральним шляхом, таким як місцевий, епідермальний шлях введення або введення через слизову оболонку, наприклад, інтраназально, орально, вагінально, ректально, під'язиково або місцево.

Діючі речовини можна включати в препаративну форму з носіями, які захищають сполуку від швидкого вивільнення, таку як препаративна форма з контрольованим вивільненням, включаючи імпланти, трансдермальні пластери та мікрокапсульовані системи доставки. Можна застосовувати біорозкладні біосумісні полімери, такі як етиленвінілацетат, поліангідриди, полігліколева кислота, колаген, складні поліортоєфіри і полімолочна кислота. Багато методів одержання таких препаративних форм запатентовані або добре відомі спеціалістам в даній галузі [див., наприклад, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, під ред. J.R. Robinson, вид-во Marcel Dekker, Inc., New York, 1978].

Терапевтичні композиції можна вводити за допомогою медичних пристроїв, відомих в даній галузі. Наприклад, в конкретному варіанті здійснення винаходу терапевтичну композицію, представлену в даному описі, можна вводити за допомогою пристрою для здійснення безголкової гіподермальної ін'єкції, такого як пристрої, [описані U.S. №№ 5399163; 5383851; 5312335; 5064413; 4941880; 4790824 або 4596556]. Приклади добре відомих імплантатів і модулів для застосування з використанням антитіл до TREM-1, представлених в даному описі, включають приклади, наведені в [U.S. № 4487603], в якому описаний імплантований мікроінфузійний насос для вивільнення лікарського препарату з контрольованою швидкістю; [U.S. № 4486194], в якому описаний терапевтичний пристрій для введення медикаментів через шкіру; [U.S. № 4447233], в якому описаний лікарський інфузійний насос для доставки медикаменту шляхом інфузії з точною швидкістю; [U.S. № 4447224], в якому описаний імплантований інфузійний апарат з варіюваним потоком для безперервної доставки лікарського засобу; [U.S. № 4439196], в якому описана осмотична система доставки лікарського засобу, що має багатокамерні компартменти; і [U.S. № 4475196], в якому описана осмотична система доставки лікарського засобу. Вміст зазначених патентів включено в даний опис як посилання. Спеціалістам в даній галузі відомо багато інших таких імплантатів, систем доставки і модулів.

У деяких варіантах здійснення винаходу, антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можна випускати в формі, яка забезпечує необхідний розподіл *in vivo*. Наприклад, гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) перешкоджає проходженню багатьох високогідрофільних сполук. Для того, щоб забезпечити проходження терапевтичних сполук, представлених в даному описі, через ГЕБ (якщо це необхідно, наприклад, в випадку раків головного мозку), їх можна включати, наприклад, в ліпосоми. Методи одержання ліпосом описані, наприклад, в [U.S. №№ 4522811; 5374548 і 5399331]. Ліпосоми можуть містити один або декілька фрагментів, які вибірково транспортуються в специфічні клітини або органи, підсилюючи тим самим таргетну доставку лікарського засобу [див. наприклад, V.V. Ranade, J. Clin. Pharmacol. 29, 1989, с. 685]. Приклади таргетуючих фрагментів включають фолат або біотин [див., наприклад, U.S. 5416016 на ім'я Low та ін.]; маннозиди [Umezawa та ін., Biochem. Biophys. Res. Commun. 153, 1988, с.

1038]; антитіла [P.G. Bloeman та ін., FEBS Lett. 357, 1995, с. 140; M. Owais та ін., Antimicrob. Agents Chemother. 39, 1995, с. 180]; рецептор сурфактантного білка A [Briscoe та ін., Am. J. Physiol. 1233, 1995, с. 134]; p120 [Schreier та ін., J. Biol. Chem. 269, 1994, с. 9090]; див. також [K. Keinanen, M.L. Laukkanen, FEBS Lett. 346, 1994, с. 123; J.J. Killian, I.J. Fidler, Immunomethods 4, 1994, с. 273].

VIII. Застосування і способи

Антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, і препаративні форми, які містять такі антитіла (наприклад, фармацевтична композиція, препаративні форми, полінуклеотиди, вектори і клітини) можна застосовувати для лікування запального захворювання (наприклад, шляхом інгібування активності TREM-1).

Таким чином, один з об'єктів винаходу стосується способів лікування запального захворювання у індивідуума, який потребує цього, що включає введення індивідууму в терапевтично ефективній дозі антитіла до TREM-1. Приклади запальних захворювань, які можна лікувати за допомогою представлених в даному описі антитіл до TREM-1, включають (але не обмежуючись тільки ними) запальне захворювання кишечника (IBD), хворобу Крона (CD), неспецифічний виразковий коліт (UC), синдром подразненого кишечника, ревматоїдний артрит (RA), псоріаз, псоріатичний артрит, системний червоний вовчак (SLE), вовчаковий нефрит, діабет типу I, хворобу Грейвса, розсіяний склероз (MS), автоімунний міокардит, хворобу Кавасаки, захворювання коронарної артерії, хронічне обструктивне захворювання легень, інтерстиціальне захворювання легенів, автоімунний тиреоїдит, склеродермію, системний склероз, остеоартрит, атопічний дерматит, вітіліго, реакцію "трансплантат-проти хазяїна", синдром Шегрена, автоімунний нефрит, синдром Гудпасчера, хронічну запальну демієлінізуючу поліневропатію, алергію, астму та інші автоімунні захворювання, які є результатом гострого або хронічного запалення.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла до TREM-1 можна застосовувати для лікування індивідуумів із запальним захворюванням кишечника. Запальне захворювання кишечника (IBD) являє собою захворювання, яке може вражати будь-яку частину шлунково-кишкового тракту від рота до ануса, викликаючи широке розмаїття симптомів. IBD викликає перш за все абдомінальний біль, діарею (яка може бути кривавою), блювоту або втрату маси, але може викликати також ускладнення поза шлунково-кишковим трактом, такі як висип на шкірі, артрит, запалення ока, втома і втрата концентрації. Пацієнтів з IBD можна поділити на два основні класи: пацієнти з неспецифічним виразковим колітом (UC) і пацієнти з хворобою Крона (CD). CD, як правило, зачіпає клубову кишку і ободову кишку, вона може вражати будь-яку ділянку кишечника, але ураження часто є вогнищевим (уражені захворюванням ділянки у вигляді вогнищ поширюються по кишечнику). UC завжди зачіпає пряму кишку (тобто відноситься до товстої (ободової) кишки) і ураження є більш безперервним. При CD запалення є трансмуральним, приводячи до абсцесів, фістул і стриктур, в той час як при UC, запалення, як правило, обмежується слизовою оболонкою. Для хвороби Крона не існує фармацевтичного або хірургічного одужання, в той час як деяких пацієнтів з UC можна виліковувати шляхом хірургічного видалення ободової кишки. Можливості лікування обмежені контролюванням симптомів, підтриманням ремісії і попередженням рецидиву. Ефективність лікування запального захворювання кишечника в клінічних умовах можна оцінювати за зниженням бала CD, що розраховується за бальною шкалою індексу активності хвороби Крона (CDAI) на основі лабораторних тестів і анкет (опитувальника) якості життя. У випадку тваринних моделей ефективність оцінюють в основному по збільшенню маси, а також за індексом активності хвороби (DAI), що розраховується на основі комбінації даних щодо консистенції випорожнень, маси тіла і присутності крові в калі.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла до TREM-1 представлені в даному описі, можна застосовувати для лікування індивідуумів з ревматоїдним артритом. Ревматоїдний артрит (RA) являє собою системне захворювання, яке вражає якщо не весь організм, то майже весь, і є однією з таких форм артриту, які найбільш часто зустрічаються. Він характеризується запаленням суглоба, що викликає біль, ригідність, жар, почервоніння і набрякання. Таке запалення викликається запальними клітинами, які проникають в суглоби, і зазначені запальні клітини вивільняють ферменти, які можуть розщеплювати кістку і хрящ. В результаті цього зазначене запалення може приводити серед інших фізіологічних впливів до серйозного пошкодження кістки і хряща і до руйнування суглоба і серйозного болю. Вражений суглоб може втрачати свою форму і правильне розташування, що призводить до болю і втрати рухливості. У даній галузі відомо декілька тваринних моделей ревматоїдного артриту. Наприклад, у випадку моделі колаген-індукованого артриту (CIA), у мишей розвивається запальний артрит, що нагадує людський ревматоїдний артрит. Оскільки CIA характеризується імунологічними і

патологічними особливостями, схожими з RA, це робить його придатною моделлю для скринінгу потенційних протизапальних сполук для людини. Ефективність при використанні цієї моделі оцінюють за зменшенням набрякання суглобів. Ефективність при RA в клінічних умовах оцінюють за здатністю знижувати симптоми у пацієнтів, яку оцінюють за комбінацією набрякання суглобів, швидкістю осадження еритроцитів, рівнями С-реактивного білку і рівнями в плазмі таких факторів, як антитіла до цитрулінованого білку.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, можна застосовувати для лікування індивідуумів з псоріазом. Псоріаз являє собою опосередковане Т-клітинами запальне порушення шкіри, яке може викликати значний дискомфорт. Він являє собою захворювання, яке в даний час не піддається лікуванню і яке вражає людей різного віку. Хоча індивідууми зі слабким псоріазом часто можуть контролювати своє захворювання за допомогою агентів для місцевої обробки, більше одного мільйона людей в усьому світі потребують обробки ультрафіолетовим світлом або системною імуносупресорною терапією. На жаль, незручності і ризики, зв'язані з ультрафіолетовим опроміненням, і токсичність, що притаманна багатьом терапіям, обмежують їх тривале застосування. Крім того, у пацієнтів, як правило, спостерігається рецидив псоріазу та в деяких випадках він виникає незабаром після припинення імуносупресорної терапії. Розроблена в останні роки модель псоріазу базується на перенесенні CD4⁺-Т-клітин, вона імітує багато аспектів людського псоріазу і тому її можна застосовувати для ідентифікації сполук, придатних для лікування псоріазу [Davenport та ін., Internat. Immunopharmacol 2, 2002, сс. 653-672]. Ефективність при застосуванні цієї моделі оцінюють з використанням бальної системи за зменшенням шкірної патології. Аналогічно до цього, ефективність для пацієнтів оцінюють за зменшенням шкірної патології.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіла до TREM-1 можна застосовувати для лікування індивідуумів з псоріатичним артритом. Псоріатичний артрит (РА) є типом запального артриту, який виникає в субпопуляції пацієнтів з псоріазом. У цих пацієнтів шкірна патологія/симптоми супроводжуються набряками суглобів, схожими з набряками, які спостерігалися при ревматоїдному артриті. Він відрізняється наявністю неоднорідних опуклих почервонілих ділянок шкірного запалення, що характеризуються лущенням. Псоріаз часто вражає згини ліктів і колін, шкіру голови, пупок і ділянки навколо геніталій і ануса. Приблизно у 10 % пацієнтів з псоріазом розвивається також асоційоване запалення суглобів.

З точки зору даного опису профілактичне, паліативне, симптоматичне і/або радикальне лікування можуть розглядатися як окремі об'єкти винаходу. Антитіло, запропоноване у винаході, можна вводити парентерально, наприклад, внутрішньовенно, наприклад, внутрішньом'язово, наприклад, підшкірно. В альтернативному варіанті антитіло, запропоноване у винаході, можна вводити непарентеральним шляхом, наприклад, перорально або місцево. Антитіло, запропоноване у винаході, можна вводити в профілактичних цілях. Антитіло, запропоноване у винаході, можна вводити в терапевтичних цілях (на вимогу).

Представлені нижче приклади дані з метою ілюстрації винаходу, але не для обмеження його обсягу. Вміст всіх процитованих в даній заявці документів, спеціально включений до неї як посилання.

Приклади

Приклад 1: Аналіз кінетичних характеристик взаємодії варіантів антитіла 318 з TREM-1 людини і мавп циномолгус, за допомогою методу поверхневого плазмонного резонансу

Визначали кінетичні характеристики зв'язування варіантів mAb 0318 з людським TREM-1-Fc (hTREM-1) і TREM-1-Fc мавп циномолгус (сTREM-1). Вивчення зв'язування здійснювали на аналізаторі ProteOn (фірма BioRad), за допомогою якого вимірювали молекулярні взаємодії в реальному часі на основі поверхневого плазмонного резонансу. Експерименти проводили при 25 °C і зразки зберігали при 15 °C в компартменті для зразків. Сигнал (RU, одиниці відповіді), вимірюваний за допомогою ProteOn, знаходиться в прямій кореляції з масою на поверхнях індивідуальних сенсорних чіпів в шести паралельних проточних комірках. Моноклональне антитіло до людської Fc або поліклональних антитіл до мишачої Fc з наборів для захоплення людської або мишачої Fc фірми Biorad іммобілізували в горизонтальному напрямку на проточних комірках сенсорного чіпу GLM згідно з інструкціями виробника. Кінцевий рівень іммобілізації захоплюючого антитіла відповідав приблизно 2600-6000 RU в кожному експерименті. Захоплення очищених моноклональних мишачих або рекомбінантно експресованих антитіл до hTREM-1 здійснювали шляхом розведення антитіл до концентрації 5-10нМ в рухомому буфері (10мМ Hepes, 0,15М NaCl, 5мМ ЕДТК, 0,05 % сурфактанту P20, pH 7,4), після чого ін'єктували в вертикальному напрямку зі швидкістю 30 мкл/хв протягом 60 с, в результаті чого створювали проміжні референс-плями по сусідству з усіма проточними

комірками, в яких було іміобілізовано тільки антитіло до Fc. Це, як правило, приводило до кінцевих рівнів захоплення тестованих антитіл, які відповідають приблизно 100-300 RU і величинам R_{max} аналіту 30-90 RU. Зв'язування білків hTREM-1 або cTREM-1 здійснювали шляхом ін'єкції аналіту (антигену) в усі проточні комірки в горизонтальному напрямку для забезпечення можливості порівняльного аналізу зв'язування різних захоплених антитіл з TREM-1 щодо зв'язування з проміжною референс-плямою. Білки hTREM-1 або cTREM-1 серійно розводили в співвідношенні 1: 3 в рухомому буфері, охоплюючи діапазон концентрацій 1,2-100нМ, ін'єктували зі швидкістю 100 мкл/хв протягом 250 с і давали можливість дисоціювати протягом 600 с. Поверхню GLM регенерували після кожного циклу ін'єкції аналіту за допомогою двох ін'єкцій протягом 18 с 10мМ гліцину, рН 1,7 і 50мМ NaOH зі швидкістю 100 мкл/хв. За допомогою цієї стадії регенерації видаляли антитіло до TREM-1 і будь-який зв'язаний білок TREM-1 з поверхні з іміобілізованим захоплюючим антитілом і забезпечували можливість подальшого зв'язування наступної пари зразків, призначених для аналізу взаємодії. Процедура регенерації не приводила до видалення безпосередньо іміобілізованого захоплюючого антитіла до Fc з поверхні чіпа.

Афінності зв'язування антитіл з антигеном кількісно оцінювали шляхом визначення константи рівноваги реакції дисоціації (K_D), яку визначали шляхом вимірювання кінетичних характеристик формування комплексу і його дисоціації. Константи швидкості, відповідні асоціації та дисоціації одновалентного комплексу, такі як k_a (швидкість асоціації) і k_d (швидкість дисоціації), одержували шляхом підгонки даних до моделі зв'язування Ленгмюра за типом 1: 1 з використанням для оцінки програмного забезпечення ProteOn, призначеного для аналізу даних. Коефіцієнт K_D зв'язаний з k_a і k_d рівнянням $K_D = k_d/k_a$.

Перед здійсненням аналізу даних криві зв'язування обробляли з використанням подвійного контролю (віднімання сигналів від референс-поверхні, а також рівнів, одержаних при ін'єкції чистого буфера на захоплені антитіла до TREM-1). Це дозволяло вносити корекцію на інструментальний шум, зсув і дрейф масиву в процесі ін'єкцій зразка.

Як продемонстровано на фіг. 1А і 1Б, встановлено, що всі варіанти mAb 0318 (а саме, 318-IgG1.1f, 318-IgG1.3f, 318-IgG4-Aba і 318-IgG1-Aba) мали афінність до людської TREM-1-Fc, подібної до афінності mAb 0318-IgG4. Варіант 0318-IgG1.3f зв'язувався також з TREM-1 мавп циномогус, хоча і з дещо нижчою афінністю в порівнянні з афінністю до людського TREM-1 (див. фіг. 1А).

Приклад 2: Аналіз інтерналізації mAb 0318-IgG1.3f після зв'язування з рецептором TREM-1

Варіант антитіла mAb 0318-IgG1.3f тестували щодо його інтерналізації в первинних людських моноцитах за допомогою як лазерної скануючої конфокальної мікроскопії (дані не представлені), так і візуалізуючого проточного цитометричного аналізу з використанням системи Amnis ImageStream®. Як продемонстровано на фіг. 2А, в момент часу 0 год. TREM-1 експресувався в основному на поверхні моноцитів. Однак через 24 годин після зв'язування антитіла значний відсоток (~36 %) рецептора TREM-1 (за результатами фарбування за допомогою 0318-IgG1.3f) був інтерналізований, це дозволяє припустити, що після зв'язування антитіла mAb 0318-IgG1.3f весь комплекс антитіло-рецептор інтерналізований в клітину.

Потім для визначення "долі" рецептора TREM-1 після його інтерналізації застосовували антитіло TREM26 [каталожний номер 314902, фірма Biolegend; див. U.S. № 20150274825, параграф] для порівняння. Антитіло TREM26 не конкурує з варіантами антитіла 0318, представленими в даному описі. Як продемонстровано на фіг. 2Б, в момент часу 20 год. спостерігалось значне зниження експресії TREM26⁺ (~51 %) в порівнянні з моментом часу 0 год. Було виявлено також значне зменшення (4-кратне) рівня MFI (середній індекс флуоресценції) TREM26⁺ в момент часу 20 год. (після обробки mAb 0318-IgG1.3f), це дозволяє припустити, що TREM-1 розщеплювався після інтерналізації. Зазначене зменшення експресії рецептора TREM-1 після впливу антитіла було оборотним, проте, це мало місце після видалення антитіла (дані не представлені).

Приклад 3: Аналіз ефективності блокування активації TREM-1 варіантами mAb 0318 за допомогою репортерного аналізу з використанням клітин BWZ/hTREM-1

Здатність варіантів антитіла mAb 0318 до TREM-1 інгібувати передачу сигналу людського TREM-1 визначали шляхом аналізу з використанням лінії клітин BWZ.36/hTREM-1DAP12:NfAT-LacZ (в даному описі позначена також як "репортерна клітина BWZ/hTREM-1"), описаного, наприклад, в [U.S. № 9550830 B2] і публікації міжнародної заявки на патент [WO 2016/009086 A1]. В цілому метод полягав у наступному: приблизно 40000 hTREM-1/BWZ.36 клітин/лунку висівали на чорний 96-лунковий планшет з прозорим пласким дном в присутності 75 нг/мл PGLYRP1 (SEQ ID NO: 8) з 2,5 мкг/мл PGN-ECndi [каталожний номер tlr1-kipgn, фірма Invivogen, Сан-Дієго, шт. Каліфорнія, США] для забезпечення позитивного сигналу з інтенсивністю, що

становить половину від максимальної, або в альтернативному варіанті в присутності субмаксимального рівня (1 мкг/мл) адсорбованого на пластику моноклонального антитіла до TREM-1 [каталожний номер MAB1278, фірма R&D Systems, Міннеаполіс, шт. Міннесота, США] для забезпечення позитивного сигналу.

5 При проведенні аналізу варіанти mAb 0318 (тобто 0318-IgG1.3f; 0318-IgG1.1f; 0318-IgG1-Aba і 0318-IgG4-Aba) титрували, починаючи з концентрації 10 мкг/мл, використовуючи 5 серійних 2-кратних розведень. Аналізований зразок інкубували протягом ночі при 37 °C, потім виявляли з використанням Beta Glo [каталожний номер E4740, фірма Promega, Медісон, шт. Вісконсін, США] згідно з протоколом для Beta Glo і реєстрували люмінесценцію. За результатами будували графік залежності інтенсивності люмінесценції Beta Glo (в відносних одиницях) від концентрації антитіла. На кожному планшеті для аналізу тестували використовуваний як негативний контроль, що не має нейтралізуючої здатності mIgG1 [каталожний номер MAB002, фірма R&D Systems, Міннеаполіс, шт. Міннесота, США] і використовуване як позитивний контроль, що має нейтралізуючу здатність поліклональне козяче антитіло до hPGLYRP1 [каталожний номер AF2590, фірма R & D Systems, Міннеаполіс, шт. Міннесота, США]. Як позитивний контроль використовували також антитіло MAB1278 [каталожний номер MAB1278, фірма R&D Systems; див. US № 20150274825, параграф], відомий агоніст передачі сигналу TREM-1 (див. прямокутну вставку).

20 Як продемонстровано на фіг. 3, всі варіанти mAb 0318 були сильними інгібіторами передачі сигналу людського TREM-1, що було описано раніше для антитіла mAb 0318 IgG4 в публікації міжнародної заявки на патент [WO 2016/009086 A1].

Приклад 4: Аналіз *in vitro* ефективності варіантів антитіла mAb 0318 щодо інгібування опосередкованого TREM-1 продукування прозапальних цитокінів різними первинними людськими клітинами

25 Для додаткової оцінки антагоністичних властивостей варіантів антитіла mAb 0318 кTREM-1 аналізували їх ефективність щодо блокування вивільнення різних прозапальних цитокінів (наприклад, TNF- α , IL-6 або IL-8) активованими людськими первинними клітинами. Первинні моноцити, нейтрофіли і мононуклеарні клітини периферійної крові (PBMC) виділяли з людської цільної крові і стимулювали іммобілізованим на планшеті PGRP1 і розчинним пептидогліканом (PGN-ECndss; форма пептидоглікану, яка не має TLR2-активності).

30 Як продемонстровано на фіг. 4, всі варіанти mAb 0318 (тобто IgG1.3f, IgG1.1f, IgG1-Aba і IgG4-Aba) виявилися ефективними щодо інгібування (величини IC₅₀ знаходились в діапазоні ~10-20пМ) опосередкованого TREM-1 вивільнення TNF- α із PBMC і моноцитів. Ефективність зазначених варіантів mAb 0318 була схожою з ефективністю антитіла mAb 0318-IgG4. Антитіло mAb 0318-IgG1.3f мало ефективність також і щодо інгібування продукування IL-6 (величина IC₅₀~32пМ). У випадку нейтрофілів варіант mAb 0318-IgG1.3f мав більш високі в порівнянні з антитілом mAb 0318-IgG4 характеристики щодо блокування опосередкованого TREM-1 продукування IL-8 нейтрофілами (див. фіг. 4).

40 Для додаткової демонстрації антагоністичних властивостей варіантів антитіла mAb 0318 до TREM-1 застосовували також аналіз спільної культури моноцитів-нейтрофілів. Асоційований з нейтрофілами PGRP1 при спільному культивуванні з моноцитами може зв'язуватися з рецепторами TREM-1, приводячи до продукування моноцитами TNF- α . Як продемонстровано на фіг. 4, всі варіанти антитіла mAb 0318 ефективно блокували зазначену ендогенну активацію (величини IC₅₀ знаходились в діапазоні 19-44пМ). Схожі результати були отримані для цільної крові з осадженими RBC (див. фіг. 4).

45 Приклад 5: Аналіз *in vitro* ефективності mAb 0318-IgG1.3f щодо блокування продукування IL-8 в стимульованій цільній крові

Однією з головних проблем при розробці аналізу фармакодинаміки в цільній крові (ФД) для оцінки антагоністичних властивостей варіантів антитіла до TREM-1 є високий вихідний рівень, обумовлений PGN-стимуляцією. Для полегшення вирішення цієї проблеми цільну кров стимулювали заздалегідь сформованим комплексом PGRP1+PGN в присутності інгібітора NOD2 (для того, щоб блокувати вихідні цитокіни, продуковані в результаті PGN-стимуляції NOD2). Рівні IL-8 вимірювали за допомогою стандартного фармакодинамічного аналізу зв'язування ліганда (HTRF®) (фіг. 5A) або аналізу внутрішньоклітинного фарбування цитокінів (ICS) (фіг. 5B).

55 Як продемонстровано на фіг. 5A і 5B, антитіло 0318-IgG1.3f ефективно блокувало опосередковане TREM-1 продукування IL-8, що характеризувалося відсотком інгібування, що становило 60-90 % (див. фіг. 5A). Виміряні величини IC₅₀ (середнє значення 12пМ при використанні HTRF і 19,6пМ при використанні ICS) виявилися схожими з величинами, отриманими із застосуванням інших функціональних аналізів (див., наприклад, приклад 4).

60 Приклад 6: Аналіз *in vitro* ефективності mAb 0318-IgG1.3f щодо блокування експресії мРНК

різних медіаторів запалення в стимульованій цільній крові

Для додаткової демонстрації антагоністичних властивостей mAb 0318-IgG1.3f вимірювали рівні експресії деяких медіаторів запалення (тобто хітиназа-3-подібного білку 1 ("CHI3L1"), IL1 β і IL6) за допомогою ПЛР в реальному часі (кПЛР). В цілому метод полягав у наступному: зібрану в пробірки з EDTA людську цільну кров трьох здорових добровольців (донори № 126, 290 і 322) стимулювали заздалегідь включеними в комплекс hPGRP1 (50 мкг/мл) і PGN-ECndss (10 мкг/мл) (фірма Invivogen, каталожний номер tlrl-ksspgn) протягом ночі в присутності mAb 0318-IgG1.3f в різних концентраціях (0-1нМ). Після стимуляції плазму видаляли і заморожували для вимірювання рівнів цитокінів. Із зразків виділяли мРНК з використанням набору MagMax-96 Blood Isolation (фірма ThermoFisher, каталожний номер AM1837) згідно з протоколом виробника. Потім виділену мРНК перетворювали на кДНК з використанням майстер-суміші SuperScript VILO (фірма Thermo Fisher, 11755250). Після цього здійснювали qPCR із застосуванням таких зондів: HPRT1 (Hs99999909_m1) (фірма Thermo Fisher, 4351370), CHI3L1 (Hs01072228_m1) [фірма Thermo Fisher, 4331182], IL1 β (Hs00174097_m1) [фірма Thermo Fisher, 4331182] і IL6 (Hs00985639_m1) [фірма Thermo Fisher, 4331182] і універсальної майстер-суміші TaqMan Fast (2 $\times$) [фірма Thermo Fisher, 4366072]. Рівні генної експресії стандартизували щодо рівня зонда HPRT1 і отримували величини $\Delta\Delta CT$. Потім за результатами будували графік і визначали величини IC₅₀.

Як продемонстровано на фіг. 6A-6B, і відповідно до результатів, представлених в наведених вище прикладах, mAb 0318-IgG1.3f мало здатність інгібувати опосередковану TREM-1 експресію різних медіаторів запалення в людській цільній крові. Встановлено, що інгібування залежало від дози. Величини IC₅₀ наведені нижче в таблиці 1.

В сукупності, представлені вище результати демонструють, що варіанти антитіла mAb 0318, представлені в даному описі, мають антагоністичну дію і можуть ефективно блокувати опосередковане TREM-1 продукування прозапальних цитокінів різними людськими клітинами.

Таблиця 1

Тип клітин	Прозапальний медіатор	Стимул	mAb 0318-IgG1.3f IC ₅₀ (нМ)
цільна кров	РНК CHI3L1	розчинний PGRP + розчинний PGN-ECndss	4,58 $\pm$ 5,60 (N=3)
	РНК IL1b		11,15 $\pm$ 16,01 (N=3)
	РНК IL6		97,66 $\pm$ 125,63 (N=3)

Приклад 7: В'язкість варіантів mAb 0318

У зразку замінювали буфер і здійснювали діаліз з використанням вибраного складу (20мМ гістидин, 150мМ цукроза, 25мМ аргінін, 50мМ хлорид натрію, рН 6,0), після чого концентрували з використанням центрифужних фільтрів фірми Amicon Ultra з відсічкою за молекулярною масою. Агрегаційний стан зразків оцінювали за допомогою гель-фільтрації для контролю можливих змін мономірності, якщо вони мали місце, після концентрування. Залежність в'язкості від концентрації визначали за допомогою віскозиметра для розчину RheoSense m-VROC, здійснюючи для кожної аналізованої концентрації вимірювання зростаючих зсувних зусиль за 3 точками. Концентрацію визначали на основі вимірювання абсорбції при 280 нм за допомогою приладу nanoDrop із застосуванням серійних розведень і екстраполяції.

Як продемонстровано на фіг. 7, обидва варіанти 318-IgG1.1f і 318-IgG1.3f мали схожий профіль в'язкості. При концентрації приблизно 130 мг/мл варіант 0318-IgG1.3f мав величину в'язкості приблизно 9 сП. Такий профіль в'язкості близький до профілю, визначеного раніше для mAb 0318-IgG4 [див. публікацію міжнародної заявки на патент WO 2016/009086].

Приклад 8: Імуногенний потенціал варіантів mAb 0318

Як продемонстровано на фіг. 8 і в таблиці 2 (нижче), варіанти 318-IgG1.1f і 318-IgG1.3f характеризувалися ризиком імуногенності для хворих людей від низького до середнього. Тільки приблизно 22-30 % донорів давали імуногенні відповіді (які оцінювали за проліферацією in vitro CD4⁺T-клітин) на зазначені антитіла. Імуногенність варіантів 0318-IgG1-Aba і 0318-IgG4-Aba становила 10 % і 42.5 % відповідно (див. таблицю 2 (нижче)). На відміну від цього, варіант mAb 0318-IgG4 виявився набагато більш імуногенним (55 %) для хворих людей. KLN (гемоціанін лімфи равлика) і VL6 (МАт до IL-21R), які застосовували як позитивні контролю, мали високу імуногенність для хворих людей (100 % і 40 % відповідно).

Таблиця 2

Аналіз	Когорта	Варіант 0318	конц. (мг/мл)	Клітина-хазяїн	ЕУ/мг	% мономера	Конц. в аналізі (мкг/мл)	% імуногенності
PBMC	40	IgG4	161	UCOE CHO	<0,001	97,9	150	55,0
PBMC	40	IgG1-Aba	145	UCOE CHO	<0,001	97,3	150	10,0
PBMC	40	IgG1.1f	170	UCOE CHO	<0,006	98,6	150	22,5
PBMC	40	IgG4-Aba	5	HEK	<0,02	98,9	150	42,5
PBMC	40	IgG1.3f	4,6	HEK	<0,02	99,5	150	30,0

Приклад 9: Аналіз зв'язування варіантів mAb 0318 з FcRn методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR)

Для визначення того, чи мають різні варіанти mAb 0318 здатність зв'язуватися з FcRn, здійснювали іммобілізацію рецепторів FcRn (мишей, людини і мавп циномоглус) на біосенсорному чипі CM5 BIAcore [фірма GE Healthcare Bioscience, Уппсала, Швеція] за допомогою аміноного сполучення до досягнення рівня, який відповідає 400 одиницям відповіді (RU). Аналіз проводили при кімнатній температурі з використанням ЗФР, 0,05 % Tween-20™, pH 6,0 [фірма GE Healthcare Bioscience] як рухомого буферу і буферу для розведення. Різні варіанти mAb 0318 (200нМ) ін'єктували зі швидкістю потоку 50 мкл/хв при кімнатній температурі і pH 6,0. Час асоціації становив 180 с, фаза дисоціації (також при pH 6,0) займала 360 с. Регенерацію поверхні чіпу до повернення до вихідного рівня здійснювали шляхом короткочасної ін'єкції 50мМ Трис, pH 8,0 і 150мМ NaCl. Аналіз SPR-даних проводили шляхом порівняння висоти сигналу біологічної відповіді через 180 с після ін'єкції і через 300 с після ін'єкції. Відповідні параметри представляли собою максимальний рівень в RU (RU max) (через 180 с після ін'єкції) і пізній рівень стабільності (через 300 с після завершення ін'єкції).

Як продемонстровано на фіг. 9А і 9Б, всі варіанти антитіла mAb 0318 (IgG1-Aba mod, IgG4-Aba mod, IgG1.1f і IgG1.3f) мали здатність зв'язуватися з FcRn людини, мишей і мавп циномоглус в залежності від pH. Це мало місце також і для антитіла mAb 0318 (IgG4).

Приклад 10: Аналіз зв'язування варіантів mAb 0318 з одним або декількома FcγR

Як зазначено вище, введення in vivo антитіл до певних рецепторів на поверхні імунних клітин може індукувати вивільнення цитокінів, що може призводити до індукції загального і токсичного клінічного ускладнення, відомого як синдром вивільнення цитокінів (CRS). Через побоювання, що участь FcγR в результаті перехресного зшивання може приводити до можливого прояву агоністичної активності TREM-1, антитіло mAb 0318-IgG4 перетворювали на один з варіантів форматів, представлених в даному описі (тобто IgG1.1f, IgG1.3f, IgG1-Aba або IgG4-Aba). Потім оцінювали здатність варіантів антитіла 0318 до зв'язування з різними FcγR.

Як продемонстровано на фіг. 10А і 10Б, варіанти 318-IgG1.1f і 318-IgG1.3f характеризувалися мінімальним зв'язуванням з усіма FcγR (тобто FcγRI (CD64), FcγRIIA (варіанти CD32a-H131 і CD32a-R131), FcγRIIB (CD32b), FcγRIIIA (варіант CD16a-V158) і FcγRIIIB (варіант CD16b-NA2)). Варіанти 318-IgG1-Aba і 318-IgG4-Aba не зв'язувалися з FcγRIIA, FcγRIIIB, FcγRIIIA і FcγRIIIB, але зв'язувалися з FcγRI. На відміну від цього, mAb 0318 (IgG4) характеризувався значним рівнем зв'язування з усіма FcγR.

Приклад 11: Аналіз індукції прозапальних цитокінів варіантами mAb 0318

Для подальшого визначення того, чи приводить обробка in vivo варіантами mAb 0318 до ризику виникнення синдрому вивільнення цитокінів, збирали цільну кров у 8 донорів і виділяли моноцити. Потім моноцитам давали диференціюватися в незрілі дендритні клітини, висіваючи моноцити (4×10^6 клітин/лунку) і культивуючи їх в середовищі для диференціювання, яке містить IL-4 і GM-CSF (100 нг/мл). Приблизно через 2-3 дні після посіву приблизно половину середовища для диференціювання замінювали свіжим середовищем. У день 7 клітини збирали і оцінювали ефективність диференціювання шляхом аналізу експресії CD14 на клітинах за допомогою проточного цитометра. Потім незрілі дендритні клітини висівали на плоскодонний планшет ($0,8 \times 10^5$ клітин/лунку) і у відповідні лунки додавали варіанти mAb 0318 (які містять або не містять CHO-CD32a). Незрілі дендритні клітини, стимульовані PGRP+PGN, використовували як позитивний контроль. Потім клітини інкубували протягом ночі при 37 °C. На наступний день збирали супернатанти з лунок і оцінювали кількість продукowanego TNF-α, IL-6 і IL-12 за допомогою ELISA.

Результати, отримані для репрезентативних донорів, представлені на фіг. 11А-11І. Додавання різних варіантів mAb 0318 (0318-IgG1.1f, 0318-IgG1.3f і 0318-IgG1.1 Aba) приводило до мінімального продукування IL-6 (фіг. 11А, 11Б і 11В), TNF- α (фіг. 11Г, 11Д і 11Е) і IL-12 (фіг. 11Ж, 11З і 11К) незрілими дендритними клітинами. Ці результати, поряд з отриманими в прикладі 9, свідчать про те, що антитіла до TREM-1, представлені в даному описі, характеризуються низьким ризиком індукції синдрому вивільнення цитокінів при введенні пацієнтам *in vivo*.

Приклад 12: Додаткові характеристики варіантів mAb 0318

Біофізичні характеристики варіанту 0318-IgG1.3f наведені нижче в таблиці 3.

Таблиця 3

Біофізичні характеристики антитіла до TREM-1 0318-IgG1.3f

Властивість	Метод	Результат
Ідентичність	PX-MC	Підтверджена інтактна маса
	Пептидне картування методом PX-MC/MC	Послідовність підтверджена за допомогою пептидної карти з використанням Lys-C (вихід 95,4 %; ступінь глікозилювання 99,7 %)
Чистота/гомогенність	SEC	мономер 96,3 %, HMW 3,6 %
	SEC-MALS	Основний пік - 95 % мономера і є гомогенним (145 кДа)
	PX-MC	G0F (23,3 %), G1F (51,3 %), G2F (17,3 %), SG2F (2,1 %), S2G2F (1,0 %)
	Капілярне ізоелектричне фокусування (cIEF)	Основний пік $pI=8,75$ (55 %); кислотні варіанти = 29,5 % і основні варіанти = 15,5 %
	ДСН-ПААГ	В відновлюючих умовах: 2 основні смуги ~50 кДа і 25 кДа В невідновлюючих умовах: основна смуга ~150 кДа з мінорними фрагментами ~98 кДа, 75 кДа, 50 кДа, 25 кДа (артефакти, обумовлені умовами ДСН-розгонки)
Афінність	SPR (Biacore)	huTREM1: $K_D=0,91\text{нМ}$; $k_{on}=1,4\text{ E}+06\text{ (1/Мс)}$; $k_{off}=1,3\text{ E}-3\text{ (1/с)}$ SynoTREM1: $K_D=3,4\text{нМ}$; $k_{on}=4,0\text{ E}+05\text{ (1/Мс)}$; $k_{off}=1,4\text{ E}-3\text{ (1/с)}$
Термостабільність	DSC	$T_m1=66,2\text{ }^\circ\text{C}$; $T_m2=78,4\text{ }^\circ\text{C}$; $T_m3=83,2\text{ }^\circ\text{C}$
		Оборотність при 77 $^\circ\text{C}$ становить 24 %
Взаємодія Fc γ R/FcRn	SPR (Biacore)	Продемонстрована знижена здатність до зв'язування з усіма Fc γ R
		Очікуване рН-залежне зв'язування FcRn можна порівняти зі зв'язуванням МАт IgG1 дикого типу

Для клінічних розробок біофізичні характеристики варіанту mAb 0318-IgG1.3f є кращими. Ідентичність антитіла була підтверджена за допомогою мас-спектрометричного аналізу (аналіз інтактною маси і пептидне картування). За даними аналізу методом гель-фільтрації > 96 % антитіла знаходилося в формі мономера. Була підтверджена наявність одного сайту N-глікозилювання на N301 важкого ланцюга, профіль гліканів відповідав профілю гліканів експресованих CHO моноклональних антитіл (G0F, G1F і G2F). Термостабільність ($T_m1=66,2\text{ }^\circ\text{C}$; $T_m2=78,4\text{ }^\circ\text{C}$; $T_m3=83,2\text{ }^\circ\text{C}$) і оборотність при нагріванні (24 % при 77 $^\circ\text{C}$) mAb 0318-IgG1.3f знаходилися в діапазоні, характерному для типового людського моноклонального антитіла IgG1.3.

Характеристики стабільності варіанту mAb 0318-IgG1.3f наведені в таблиці 4 (нижче).

Таблиця 4

Стабільність антитіла до TREM-1 0318-IgG1.3f

Властивість	Метод(и)	Результати
Заморожування/відтаювання (2 год. при -80 °C, 4 год. при RT × 3)	УФ, SEC, DLS, iCIEF	Не виявлено ризику для стабільності при заморожуванні/відтаюванні
Профіль розчинності / концентрація	УФ, SEC	>150 мг/мл в буфері для композиції (20мМ гістидин, 150мМ цукроза, 50мМ хлорид натрію, 25мМ аргінін, pH 6,0)
Вибір значення pH, що забезпечує конформаційну і колоїдну стабільність	Optim2 (температури плавлення і початку агрегації Tm і Tagg)	Оптимальна конформаційна стабільність при pH 6-8 Оптимальна колоїдна стабільність при pH 5-6
Вибір буфера і ексципієнтів	Optim2 (температури плавлення і початку агрегації Tm і Tagg)	Стабілізатори: цукроза, сорбіт, аргінін (висока концентрація), гліцерин
Прискорений тест на стабільність 150 мг/мл 12 тижнів при 4 °C, 25 °C і 40 °C в буфері для композиції (20мМ гістидин, 150мМ цукроза, 50мМ хлорид натрію, 25мМ аргінін, pH 6,0)	SEC, cIEF, HIC, PX-MC/MC (пептидне картування), PX/MC (інтактна маса), 2D-PX/MC (фрагменти), Biacore, біоаналіз, УФ-Vis, DLS	12 тижнів при 40 °C: збільшення вмісту HMW на 1,2 %/місяць збільшення вмісту LMW на 2,4 %/місяць 12 тижнів при 40 °C: збільшення Rh і Pd 12 тижнів при 40 °C: збільшення вмісту кислотних варіантів на 11 %/місяць 12 тижнів при 40 °C: дезамінування VSNK на 3 %/місяць
Оцінка в'язкості	Визначення профілю концентрація-в'язкості	В'язкість розчину досягає 9 сП при ~130 мг/мл, передбачена в'язкість 12 сП при 150 мг/мл

Не було виявлено зв'язаних з фізичною стабільністю проблем при проведенні експерименту на стрес при заморожуванні-відтаюванні (3 цикли) при концентрації 150 мг/мл в буфері описаного складу (20мМ гістидин, 150мМ цукроза, 50мМ хлорид натрію, 25мМ аргінін, pH 6,0). Тести на прискорену деградацію даної композиції в концентрації 150 мг/мл проводили при 4, 25 і 40 °C (протягом періоду часу аж до 3 місяців). Хімічні модифікації CDR залишалися на низькому рівні при всіх температурних умовах і не впливали на активність за даними аналізу методом SPR. Дезамінування VSNK було нижче очікуваного рівня в порівнянні з іншими моноклональними антитілами з каркасом IgG1.3f (збільшення на 3 %/місяць в умовах зберігання при 40 °C), зміни залежали від часу і температури. Всі інші хімічні модифікації (окиснення, дезамінування, ізомеризація) також залишалися на низькому рівні при спостереженні в процесі проведення тестів на стабільність. Слід зазначити, що в умовах зберігання при 40 °C виявлено утворення як HMW-варіантів, так і LMW-варіантів (зі швидкістю 1,2 % / місяць і 2,4 %/місяць відповідно). Виявлені зміни залежали від часу і температури, так кількість HMW зростала на 0,25 %/місяць, а кількість LMW залишалася незмінною в умовах зберігання при 4 °C протягом періоду дослідження. Низьке утворення LMW в умовах зберігання при 40 °C класифікували на основі вимірювань методом 2D-PX/MC і точних вимірювань маси з високою роздільною здатністю як результат накопичення видів з втраченим 1 Fab, а також Fab-плечем, ймовірно в консервативній послідовності у верхній шарнірній ділянці.

Приклад 13: Вивчення ФК/ТК/ФД варіанту mAb 0318-IgG1.3f на мавпах циномогус

Проводили вивчення фармакокінетичних (ФК), токсикокінетичних (ТК) і фармакодинамічних (ФД) характеристик антитіла до TREM-1 0318-IgG1.3f при його одноклозовому введенні мавпам циномогус. Деяким тваринам (n=3) вводили внутрішньовенно антитіло 0318-IgG1.3f в дозі 2 мг/кг. Іншим тваринам вводили підшкірно антитіло 0318-IgG1.3f в одній з наступних доз: (I) 0 мг/кг (тобто контроль) (n=4), (II) 0,1 мг/кг (n=4), (III) 0,5 мг/кг (n=4), (IV) 2 мг/кг (n=3) або (V) 10

мг/кг (n=4). Після введення антитіла аналізували в заздалегідь визначені моменти часу фармакокінетичні характеристики, наявність антитіл до лікарського засобу (ADA), окупацію рецептора TREM-1 (RO) та фармакодинамічні відповіді *ex vivo*.

Фармакокінетичні характеристики (ФК)

Для оцінки фармакокінетичних характеристик визначали концентрацію антитіла 0318-IgG1.3f в сироватці тварин за допомогою аналізу зв'язування ліганда з використанням біотинілювання рекомбінантного білка TREM-1 як захоплюючого реагента і такого, що надходить у продаж поліклонального козячого антитіла до TREM-1 як реагенту для виявлення.

Як продемонстровано на фіг. 12, встановлено, що фармакокінетичні характеристики антитіла 0318-IgG1.3f були нелінійними в діапазоні концентрацій від 0,1 до 10 мг/кг, головним чином внаслідок мішень-опосередкованого кліренсу (тобто інтерналізації і деградації антитіла після зв'язування з рецептором TREM-1; див. приклад 2).

Одержані за допомогою некомпартментного аналізу ФК-параметри представлені в таблицях 5 (внутрішньовенне введення) і 6 (підшкірне введення). В цілому результати полягали в наступному: 100-кратне збільшення дози приводило до 830-кратного збільшення експозицій в сироватці (AUC) (див. таблицю 6). Кліренс в організмі мавп після введення IV дози 2 мг/кг становив $0,1 \pm 0,02$ мл/ч/кг і був схожим з кліренсом інших МАТ у вигляді IgG1 (див. таблицю 4). Величина V_{ss} при 36 ± 5 мл/кг була схожа з об'ємом плазми, що свідчило про обмежений екстравакулярний розподіл. Час напіввиведення антитіла 0318-IgG1.3f зростав з 2 днів при введенні дози 0,1 мг/кг до 10 днів при введенні доз 2 і 10 мг/кг (підшкірне введення одноразової дози) (див. таблицю 6). Біодоступність антитіла 0318-IgG1.3f після підшкірного введення (2 мг/кг) була високою і становила 84 %.

Таблиця 5

ФК-параметри mAb 0318-IgG1.3f після IV-введення одноразової дози мавпам циномолгус

ФК-параметри mAb 0318-IgG1.3f після IV-введення мавпам циномолгус	
Доза (мг/кг)	2
N	3
V_{ss} (мл/кг)	36 ± 5
CL (мл/ч/кг)	$0,1 \pm 0,02$
$T_{1/2}$ (дні)	10 ± 2
AUC_{last} (мкМ×год.)	116 ± 20
ADA- позитивні/всі проаналізовані	3/3 (1/3)*
* кількість мавп, у яких виявлені персистентні ADA, серед усіх проаналізованих.	

Таблиця 5

ФК-параметри mAb 0318-IgG1.3f після SC-введення одноразової дози мавпам циномолгус

ФК-параметри mAb 0318-IgG1.3f після SC-введення мавпам циномолгус				
Доза (мг/кг)	0,1	0,5	2	10
N	4	4	3	4
C_{max} (нМ)	13 ± 4	50 ± 3	189 ± 22	1419 ± 93
T_{max} (год.)	24	48	168 ± 96	84 ± 24
AUC_{last} (мкМ×год.)	$1 \pm 0,2$	15 ± 1	94 ± 13	649 ± 64
$T_{1/2}$ (дні)	$2 \pm 0,4$	4 ± 2	10 ± 5	10 ± 3
Біодоступність після SC-введення			84 %	
ADA-позитивні/всі проаналізовані	3/4 (2/4)*	4/4 (2/4)*	3/3 (2/3)*	3/4 (1/4)*

* кількість мавп, у яких виявлені персистентні ADA, серед усіх проаналізованих.

Антитіла до лікарського засобу (ADA)

У той час як ADA були виявлені в сироватці більшості мавп (у 16 з 18) після введення одноразової дози (незалежно від шляху введення), у більшості ADA-позитивних тварин не було виявлено негативного впливу на експозицію антитіла 0318-IgG1.3f і окупацію рецептора TREM-1

(RO) (див. таблиці 4 і 5). Прискорене зниження кінцевої експозиції антитіла 0318-IgG1.3f, яке супроводжувалося формуванням ADA, було виявлено тільки у двох мавп (у одній в групі, обробленій дозою 0,1 мг/кг, в день 7 і у одній в групі, обробленій дозою 0,5 мг/кг, в день 21). Внаслідок того, що ADA вплинули на експозицію у цих двох мавп на кінцевій фазі, відповідні дані були виключені з ФК-аналізу.

Окупація рецептора TREM-1 (RO) і загальні рівні рецептора TREM-1

Потім оцінювали окупацію рецепторів TREM-1, які експресуються на моноцитах і гранулоцитах периферичної крові. Як продемонстровано на фіг. 15A і 15Б, для всіх протестованих доз відсотки окупованих рецепторів TREM-1 (тобто зв'язаних з антитілом до TREM-1) на моноцитах і гранулоцитах були схожими. Крім того, виявилось, що тривалість окупації рецептора залежала від введеної тваринам дози антитіла 0318-IgG1.3f. У випадку дози 0,5 мг/кг рівень RO, який становив $\geq 85\%$, спостерігався протягом періоду часу аж до 2 тижнів після введення антитіла. На відміну від цього, в випадку доз 2 і 10 мг/кг рівень окупованих рецепторів TREM-1, який становив $\geq 85\%$, зберігався протягом принаймні 1 місяця після введення.

Після введення доз антитіла 0318-IgG1.3f загальні рівні рецептора TREM-1 знижувалися як на моноцитах, так і на гранулоцитах (див. Фіг. 14A і 14Б). Як описано раніше, таке зменшення обумовлено головним чином підвищенням оборотності рецептора після зв'язування з антитілом. Зниження експресії рецептора TREM-1 на поверхні було оборотним і тривалість втрати рецептора на поверхні корелювала з тривалістю окупації рецептора принаймні при вивчених рівнях доз.

Встановлено, що рівні розчинного TREM-1 (sTREM-1) підвищувалися в 10-50 разів після введення одноразової дози варіанту mAb 0318 mAb-IgG1.3f у всіх протестованих оброблених дозою групах (дані не представлені). Залишилося нез'ясованим, чи пов'язане підвищення рівнів sTREM-1 з введенням антитіла до TREM-1 або із загальними умовами тримання тварин в процесі дослідження. У будь-якому випадку, оскільки концентрації лікарського засобу набагато перевищували (>1000 раз) рівні sTREM-1, не можна припустити, що розчинна мішень впливала на зв'язування варіанту mAb 0318 mAb-IgG1.3f з TREM-1 на клітинній поверхні.

Приклад 14: Вивчення ФК/ТК/ФД варіанту mAb 0318-IgG1.3f в організмі мавп циномопгус на основі 2-компаратментної моделі ФК з TMDD в центральному компартменті

Дані про ФК, RO, загальні рівні рецептора і ФД в організмі мавп аналізували з використанням 2-компаратментної моделі ФК з таким, що насичує мішень-опосередкованим розподілом лікарського засобу (TMDD) в центральному компартменті для їх акомодатії до спостережуваних в експерименті нелінійних ФК (див. приклад 12 і фіг. 13). Для опису ФД-відповіді застосовували модель інгібування прямої дії. Ця модель дозволяла ефективно описувати залежність від часу ФК/RO/ФД, що спостерігається у мавп. Спостережувані в дослідженні (незафарбовані кола) і передбачені на основі моделі кінцеві точки (суцільна лінія) представлені на фіг. 16A (0,1 мг/кг, підшкірне дозування) і 16Б (10 мг/кг, підшкірне дозування). У таблиці 7 представлені встановлені ФК/ФД-параметри. Коли дані про експозицію в сироватці варіанту mAb 0318-IgG1.3f і RO TREM-1 об'єднували для всіх мавп, було виявлено залежне від концентрації підвищення RO (див. фіг. 16A і 16Б). На основі моделі Emax, яку застосовували для опису залежності концентрація-RO, встановлена величина EC_{50} RO in vivo становила $1,6 \pm 0,2$ нМ.

Таблиця 7

Оцінки параметрів моделі ФК/ФД, яка застосовується для опису ФК/ТК/ФД-даних у мавп і оцінки прогнозованих параметрів у людини

ФК-параметри	Опис	Оцінка на основі цино-моделі (CV%)	Прогнозована оцінка параметрів для людини
Ка (h-1)	Константа швидкості абсорбції	0,049 (15)	0,049
V1 (мл/кг/кг)	Об'єм розподілу в центральному компартменті	22 (5)	22
Ke (h-1)	Константа швидкості елімінації з центрального компартмента	0,003 (10)	0,0019
K12 (h-1)	Константи швидкості розподілу	0,024 (14)	0,015
K21 (h-1)		0,022 (7)	0,014
F (%)	Біодоступність при SC-введенні	80 (5)	80

Таблиця 7

Оцінки параметрів моделі ФК/ФД, яка застосовується для опису
ФК/ТК/ФД-даних у мавп і оцінки прогнозованих параметрів у людини

ФК-параметри	Опис	Оцінка на основі цино-моделі (CV%)	Прогнозована оцінка параметрів для людини
Kdeg (h-1)	Константа швидкості обороту	0,09 (20)	0,09
Kint (h-1)	Константа швидкості інтерналізації комплексу мішень-МАт	0,39 (18)	0,39
R0 (нмоль/кг)	Вихідний рівень мішені в центральному компаратменті	0,024 (22)	0,024
KD (нМ)	Афінність МАт до TREM-1	0,64 (12)	0,24
Koff (h-1)	Швидкість дисоціації МАт від TREM-1	0,37 (7)	0,30
IC50 (нМ)	Концентрація, необхідна для інгібування опосередкованої PGN+PGRP стимуляції ex-vivo TREM-1 на 50 %	1,9 (92)	0,1
E0 (%)	Вихідна опосередковувана PGN+PGRP стимуляція ex vivo TREM-1 (перед введенням дози)	100 (фіксоване значення)	100

Таблиця 8

SEQ ID	Опис	Послідовності
50	318-IgG1.3f, важкий ланцюг	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTTFSTYAMHWVRQASGKGLEWVG RIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRD MGIRRFAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
51	318-IgG1.1f важкий ланцюг	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTTFSTYAMHWVRQASGKGLEWVG RIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRD MGIRRFAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
52	318-IgG1-Aba, важкий ланцюг	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTTFSTYAMHWVRQASGKGLEWVG RIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRD MGIRRFAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
53	318-IgG4-Aba, важкий ланцюг	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTTFSTYAMHWVRQASGKGLEWVG RIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRD MGIRRFAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYT CNVDHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP

SEQ ID	Опис	Послідовності
		PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54	318-IgG1.3f, IgG1.1f, IgG1- Aba, IgG4-Aba, легкий ланцюг	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASQSVDTFDYSFLHWYQQKPGQPPKLLI YRASNLESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSNQDPYTFG QGTELEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC

Дана заявка РСТ претендує на пріоритет попередньої заявки на [патент США 62/651605], зареєстрованої 2 квітня 2018 р., повний зміст якої включений в даний опис як посилання.

5 Перелік послідовностей

<110> БРІСТОЛ-МАЙЕРС СКВІББ КОМПАНІ

<120> АНТИТІЛА ДО TREM-1 ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> 3338.0920000/ELE/C-K/DKC

<140> US 62/651,605

<141> 2018-04-02

<160> 84

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 234

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 1

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
1 5 10 15

Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
20 25 30

Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
35 40 45

Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
50 55 60

Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
65 70 75 80

Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
85 90 95

Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
100 105 110

Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
115 120 125

Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Ser Gly Thr Pro Gly Ser Asn
130 135 140

5 Glu Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Lys Ile Pro Pro Thr Thr Thr Lys
145 150 155 160

Ala Leu Cys Pro Leu Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro
165 170 175

10 Pro Lys Ser Thr Ala Asp Val Ser Thr Pro Asp Ser Glu Ile Asn Leu
180 185 190

Thr Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Val Pro Val Phe Asn Ile Val Ile
15 195 200 205

Leu Leu Ala Gly Gly Phe Leu Ser Lys Ser Leu Val Phe Ser Val Leu
210 215 220

20 Phe Ala Val Thr Leu Arg Ser Phe Val Pro
225 230

<210> 2
<211> 225
25 <212> PRT
<213> homo sapiens

<400> 2

30 Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
1 5 10 15

Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
20 25 30

35 Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
35 40 45

Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
40 50 55 60

Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
65 70 75 80

45 Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
85 90 95

Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
100 105 110

50 Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
115 120 125

Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Ser Gly Thr Pro Gly Ser Asn
55 130 135 140

Glu Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Lys Ile Pro Pro Thr Thr Thr Lys
145 150 155 160

60 Ala Leu Cys Pro Leu Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro

	165	170	175	
	Pro Lys Ser Thr Ala Asp Val Ser Thr Pro Asp Ser Glu Ile Asn Leu			
	180	185	190	
5	Thr Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Tyr Ser Phe Gln Val Pro Gly Pro			
	195	200	205	
10	Leu Val Trp Thr Leu Ser Pro Leu Phe Pro Ser Leu Cys Ala Glu Arg			
	210	215	220	
	Met			
	225			
15	<210> 3			
	<211> 150			
	<212> PRT			
	<213> homo sapiens			
20	<400> 3			
	Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser			
	1	5	10	15
25	Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys			
	20	25	30	
	Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe			
	35	40	45	
30	Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro			
	50	55	60	
35	Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val			
	65	70	75	80
	Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu			
	85	90	95	
40	Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln			
	100	105	110	
	Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg			
	115	120	125	
45	Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Arg Cys Ser Thr Leu Ser Phe			
	130	135	140	
50	Ser Trp Leu Val Asp Ser			
	145	150		
	<210> 4			
	<211> 3333			
	<212> DNA			
55	<213> Homo sapiens			
	<400> 4			
	gtgcaacttt ccgaagcctc taggtcattg tggcgccttg tagctgtccc gggagccctc 60			
60	agcagcagtt ggagctggtg cacaggaagg atgaggaaga ccaggctctg ggggctgctg 120			

tggatgctct ttgtctcaga actccgagct gcaactaaat taactgagga aaagtatgaa 180
 ctgaaagagg ggcagaccct ggatgtgaaa tgtgactaca cgctagagaa gtttgccagc 240
 5 agccagaaaag ctggcagat aataagggac ggagagatgc ccaagaccct ggcatgcaca 300
 gagaggcctt caaagaattc ccatccagtc caagtgggga ggatcatact agaagactac 360
 10 catgatcatg gtttactgcg cgtccgaatg gtcaaccttc aagtgaaga ttctggactg 420
 tatcagtgtg tgatctacca gcctcccaag gagcctcaca tgctgttca tcgcatccgc 480
 ttggtgtgga ccaaggggtt ttcagggacc cctggctcca atgagaattc taccagaat 540
 15 gtgtataaga ttctcttac caccactaag gccttggtcc cactctatac cagccccaga 600
 actgtgaccc aagctccacc caagtcaact gccgatgtct ccactcctga ctctgaaatc 660
 20 aaccttaca atgtgacaga tatcatcagg gtccggtgt tcaacattgt cattctcctg 720
 gctggtggat tctgagtaa gagcctggtc ttctgttcc tgttctgtg cacgctgagg 780
 tcattgtac ctaggcccc cgaaccacg agaatgtcct ctgactcca gccacatcca 840
 25 tctggcagtt gtgccaaggg aggagggagg aggtaaaagg caggaggtta ataacatgaa 900
 ttaaactgt aatcacggc tatttctaaa gtcagcgtct caccttctg cccactgccc 960
 30 tcgttctct aataatctg ggtgggcatt tgtgcctcag aaaagaagtt acagcccaa 1020
 acatgcttg tcctcattc caccagccac ttggggttgg catgaaatac agacagctca 1080
 atgctttca ccgtaattct ctgtggggg ctgtgacatg cagaaggcac acctgatact 1140
 35 tctctgctc agtttgccc tggaccatac aatttggcc tgacctggac agagctcca 1200
 ctacagaagc atctgctcg ccccatgctg ggacttctc ttctagcat cagacactg 1260
 40 ggttcatgc ttatgtgtg ttcttcaa cactccaga aaagggtgt gaagattgtg 1320
 gaacctggag aaataagaca tcgtggtgag aaagtgcac ctctcagag aaaagagtt 1380
 aactgagtat ctctcttg ggaaatactg gcaggccgag atgggatcca taggagagca 1440
 45 acaacagacc atgtcagaca tctgtgtgc attatcgtt ggatcctgaa aatagccccg 1500
 tgaaggcaga aatgtatgt actagaacga ggccacatga ataagccact gccactggc 1560
 50 aggagtga aaactgaagcgc tccttacctg aaggaccca aaacatata gaatagaata 1620
 accaggagt ccgcctgtgt ctaaagcct ctcttctgt atcacacaag ggacaggat 1680
 ggtggagtaa aagctctccc cctgggaggc ttctggaggc tgtcccatg tgcttgcta 1740
 55 gtcccccact ctgcctcct cctcttctc cagtctgct ctggaacacc tgcctcagtt 1800
 tccatgctct ctccagtgc cccccggtg aagcaggtag gtgttcaggc caccacagag 1860
 60 acaatctctg tgggagattg tcttgaatc tccacagat ttcaatcagg attttgtat 1920

ttctacttt gagctttaa gggaaatggg cctcatgggt ggggaaagga tgggtgggtcc 1980
 5 ttccagccca atttagtgat gccagggca gatattatcc tcagttccca agagcaatca 2040
 tacttttcca cacataccgt gtgtctcatg ttaggtaaat gtattttac aatgagcacc 2100
 acttctgtgg aaaaagtcc ctgcacgggg aggtccagct tccagactgc tccatcgcat 2160
 10 aaggacttcc ccattcccct aaatgctgct ctgtcagaac ctgccaggt aatggtaatg 2220
 accctagaga gatgatttct gaaccgcaat ttgagccca ttagaagggtg tgtggtgggc 2280
 atttattca tctgatgct ctggtgagaa tcttgcaga cgcactagat ccagaagctg 2340
 15 ttaatcttgg tgcatttatt ttctaccta aaagaaccaa gcagctcaga ggcagtgact 2400
 gtacaggatg cagtgtttat aataatgctg agcttctgg tctggaaccc cacactttag 2460
 20 caatcccagc attgttctg ttatgaagt tgacaaagt accagggcaa gggggtatta 2520
 tcattaaata cactctagga gaggcagaac acatgagggc aatgttttc agaggtcttt 2580
 aggccaccgc atcagattct cctggagcat aaagcaaag ctttatgagt ccagggcccc 2640
 25 tgcagaccta ctgtatacta gtatacagct ccctcttagt ggatctcaag ctgtttcca 2700
 aaaagtcat acactccta ccaaagccca tgacacattc atacagattc atccagacat 2760
 30 aaccactgc atgggtccagt gcatgctgt gtgcttaact tattatagat caagtgttat 2820
 ttaagtcaa catattaaac gtgactgaaa tattatatgc actaaatcg aagacaaatg 2880
 gccgtgctgg atactctcc attgcactt acagggcacg ccatgctcca tctcccat 2940
 35 cctgcctggg aacctgacca atgtggctaa accagcaggc tccctggctg ccagcttctg 3000
 gctggttag ccaatgggaa gcatgagagg agagccgagg gtggggagac agtcagatca 3060
 40 gggtttctgt cctcagggt ccctccctgg cagggtgggt caggagtggc tgcattcccc 3120
 tctgaaggct cctcaagcc tctagcaaa cagctcccat ctccaagtcc agccacctgt 3180
 tccatctct cctctgtagg ccagcagtg ggaatgacct accactattg ccagcctcag 3240
 45 catactgaag cacccttac tggattccct aaattctatg cacatgttta ttaaatgctc 3300
 ctcaattacc cagttaaaaa aaaaaaaaaa aaa 3333
 50 <210> 5
 <211> 2102
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 55 <400> 5
 attgtgtgc ctgtagctg tcccgaggc cctcagcagc agttggagct ggtgcacagg 60
 aaggatgagg aagaccaggc tctgggggct gctgtggatg ctcttctc cagaactccg 120
 60 agctgcaact aaattaactg aggaaaagta tgaactgaaa gaggggcaga ccctggatgt 180

gaaatgtgac tacacgctag agaagtttgc cagcagccag aaagcttggc agataataag 240
 ggacggagag atgccaaga ccctggcatg cacagagagg cctcaaaga attcccatcc 300
 5 agtccaagtg gggaggatca tactagaaga ctacatgat catggtttac tgcgcgtccg 360
 aatggtaac ctcaagtgg aagattctgg actgtatcag tgtgtgatct accagcctcc 420
 10 caaggagcct cacatgctgt tcatcgcct cgccttggg gtaggaagg gttttcagg 480
 gacccctggc tcaatgaga attctacca gaatgtgtat aagattcctc ctaccaccac 540
 taaggccttg tgccactct ataccagccc cagaactgtg acccaagctc cacccaagtc 600
 15 aactgccgat gtctccactc ctgactctga aatcaacctt acaaatgtga cagatatcat 660
 caggatatgt ttccaggctc ctgggcccct ggtttggaca ctgagccctt tgtttccag 720
 20 tctgtgtgct gagaggatgt gaaagtggg gaaaggggag ggtggggcag gagaagactt 780
 gagtacatt agtctggga gaaatgtcca ggggaagaag gaagtgggga tggagaatag 840
 gggaggctct cagccaggct gtccttctcc ccagttcacc ttcttggtt ccttgaacc 900
 25 tgagtattaa agagagggaa atggcatctt cccaagttc cagtggagct catccaacc 960
 caggggcctg atgggcagtg ggaaagcact ctgagtggg ggcctggat ctagtgttg 1020
 30 cctgactaac tgaatgtgac ttgggtgag tcaggaacc tctctggct tagcttctt 1080
 gacaattcag taggcatgtt agaaaccaa agctggaaga cattgtccac ctaataactc 1140
 tcagcaggag ctggagctgg ggctaaatgc agtattggt ttgccttat tgtttttaa 1200
 35 ataacattgt tgcattgcc caattataga taaatagaat cagaatttt gcagatgagg 1260
 tccctctcag ttttttaat aagatgttta ggagatttct aatgtgtagg caaacttaag 1320
 40 aaccactaac ttagcaattt cacacctct tacagttatt aaatgttgat ttatattaga 1380
 atgttttat cattaaatac tgaattatca gtagggaaat actttccac atcaccacta 1440
 gtctaactg tctttttct catattctct tctagtctt attcatgtt atacatattt 1500
 45 taatatggca gtaagtctaa ttatacatgt ttattctt ttcttgctg aaattattct 1560
 ttgatgctgc tacctaaatt tcataaatat aattcaatg agtgcattt ttctatcaa 1620
 50 ttgggaaagc cataacttac ataaccattg gcctgttct agacattgat atagtgtga 1680
 taactctgag ataaacatat tctgcagat atattttct tcttttaaata aattaactcg 1740
 aaatttcat gagataattt aaactctgat atcattttgt atacaaatag catctaccaa 1800
 55 tggcttcca aaagattgga aacaatttgc agtgtgatcc attaagcata aataaagcag 1860
 tgtcatggca ggcttacaga caggattta gtcttttaa tcattaaata gtgtgagta 1920
 60 aatcacattc ctgctaaaac aaatgtgaac tggcgctgc tctaatttct ctatgagtgt 1980

agactccacc tccatatggg tagtggcagt gccttttcc ccattatgtt gtttggggaa 2040

5 caaagtgtc attaaacttc tgtggaataa atcaaacgaa tgatcaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aa 2102

<210> 6

<211> 3140

10 <212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 6

15 gtgcaacttt ccgaagcctc taggtcattg tggcgcctg tagctgtccc gggagccctc 60

agcagcagtt ggagctgggt cacaggaagg atgaggaaga ccaggctctg ggggctgctg 120

tggatgtctt ttgtctcaga actccgagct gcaactaaat taactgagga aaagtatgaa 180

20 ctgaaagagg ggcagaccct ggatgtgaaa tgtgactaca cgctagagaa gtttgccagc 240

agccagaaaag ctggcagat aataaggac ggagagatgc ccaagaccct ggcattgcaca 300

gagaggcctt caaagaattc ccatccagtc caagtgggga ggatcatact agaagactac 360

25 catgatcatg gtttactcg cgctccaatg gtcaaccctc aagtggaaga ttctggactg 420

tatcagtgtg tgatctacca gcctccaag gagcctcaca tgctgttga tcgcatccgc 480

30 ttggtgtgta ccaaggggtt ccggtgttca acattgtcat tctctggct ggtggattcc 540

tgagtaagag cctggtcttc tctgtcctgt ttgctgtcac gctgaggta tttgtaccct 600

aggccacga acccagaga atgtcctctg actccagcc acatccatct ggcagttgtg 660

35 ccaagggagg agggaggagg taaaaggcag ggagtaata acatgaatta aatctgtaat 720

caccggctat ttctaaagtc agcgtctcac ctctctgcc actgccctcg ttctctaat 780

40 aatcttgggt gggcatttgt gcctcagaaa agaagttaca gcccacaaaca tgcttggctc 840

ttcatccac cagccacttg gggttggcat gaaatacaga cagctcaatg ctttcaccg 900

taattctctt gtgggggctg tgacatgcag aaggcacacc tgatactct cctgctcagt 960

45 ttgccctgg accatacaat ttggcctga cctggacaga gctcccacta cagaagcatc 1020

ctgctcgccc catgctggga ctctctctt ctgcatcag acacttgggt tcatgctta 1080

50 tgtgtggttc ttccaacac tcccagaaaa ggggtgtgaa gattgtgaa cctggagaaa 1140

taagacatcg tggtagaaaa gtgcatcct ctgagagaaa agagttaaac tgagtatctt 1200

cttctgggga aatactggca ggccgagatg ggatccatag gagagcaaca acagaccatg 1260

55 tcagacatcc tgtgtgcat tatcgtgga tctgaaaaat agccccgtga aggcagaaat 1320

gtatgtgact agaacgaggc cacatgaata agccactgcc cactggcagg agtgaaaact 1380

60 gaagcgctcc ttacctgaag gaccccaaaa ccatatagaa tagaataacc aggagttccg 1440

cctgtgtcta aatgcctctt ttctgtatc acacaagggt cagggatggt ggagtaaaag 1500
 ctctccccct gggaggcttc tggaggctgt ccccatgtgc ttgcctagtt cccactctg 1560
 5 cctcctcctt ctctctcag tctgtcctg gaacacctgc ctgagttcc atgtctctc 1620
 cagtgccttc cccggtgaag caggtagggt ttcaggccac cacagagaca atctctgtg 1680
 10 gagattgtct tgcaatctcc cacagatttc aatcaggatt ttgtatttc ctacttgag 1740
 cttaaagggt aaatgggcct catgggtggg gaaaggatgg tgggtccttc cagcccaatt 1800
 tagtgatgcc cagggcagat attatcctca gttcccaaga gcaatcatac tttccacac 1860
 15 ataccgtgtg tctcatgtta ggtaaatgta ttttacaat gaccaccact tctgtgaaa 1920
 aagttccctg cacggggagg tccagcttc agactgtcc atgcataag gacttccca 1980
 20 tccccataa tgctgtctg tcagaacctg cccaggtaat ggtaatgacc ctgagagat 2040
 gattctgaa ccgcaatttt gagccatta gaagggtgt ggtgggcatt tattcatcc 2100
 tgatgtctg gtgagaatct ttgcagacgc actagatcca gaagctgtta atcttggtgc 2160
 25 attattttc ctacataaa gaaccaagca gtcagaggc agtgactgta caggatgcag 2220
 tgtttataat aatgtcagc ttgctggtt ggaacccac acttagcaa tcccagcatt 2280
 30 gttcctgtt atgaagtga caaagtacc agggcaagg ggtattatca ttaatacac 2340
 tctaggagag gcagaacaca tgagggaat gttttcaga ggtcttagg ccaccgcac 2400
 agattctct ggagcataaa gcaaatgctt tatgagtcca gggccctgc agacctactg 2460
 35 tatactagta tacagctccc tctagtga tctcaagctt gttccaaaa agtcattaca 2520
 ctcttacca aagcccatga cacattcata cagattcatc cagacataac cactgcatg 2580
 40 gtccagtga tctgtgtg cttaactat tatagatcaa gtgtattta agtccaacat 2640
 attaaacgtg actgaaatat tatatgcact aaatcggaag acaaatggcc gtgctggata 2700
 ctctccatt tgcattaca ggccagcca tctccatcc tccccatct gctgggaac 2760
 45 ctgaccaatg tggctaaacc agcaggctcc ctggctgcca gcttctggct ggttagacca 2820
 atgggaagca tgagaggaga gccgagggtg gggagacagt cagatcagggt ttctgtcct 2880
 50 cagggctccc tccctggcag gtggtggcag gagtggctgc attccctct gaaggctct 2940
 tcaagcctct cagcaaacag ctccatctc caagtccagc cacctgttc atctctct 3000
 ctgtaggccc agcagtggga atgaccacc actattgcca gcctcagcat actgaagcac 3060
 55 cccttactgg attccataa ttctatcac atgtttatta aatgtcctc aattaccag 3120
 taaaaaaaa aaaaaaaaaa 3140
 60 <210> 7

<211> 233
 <212> PRT
 <213> Macaca fascicularis

5 <400> 7

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
 1 5 10 15

10 Glu Leu Arg Ala Thr Thr Glu Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Tyr Lys
 20 25 30

Glu Gly Gln Thr Leu Glu Val Lys Cys Asp Tyr Ala Leu Glu Lys Tyr
 35 40 45

15 Ala Asn Ser Arg Lys Ala Trp Gln Lys Met Glu Gly Lys Met Pro Lys
 50 55 60

Ile Leu Ala Lys Thr Glu Arg Pro Ser Glu Asn Ser His Pro Val Gln
 20 65 70 75 80

Val Gly Arg Ile Thr Leu Glu Asp Tyr Pro Asp His Gly Leu Leu Gln
 85 90 95

25 Val Gln Met Thr Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln Cys
 100 105 110

Val Ile Tyr Gln His Pro Lys Glu Ser His Val Leu Phe Asn Pro Ile
 115 120 125

30 Cys Leu Val Val Thr Lys Gly Ser Ser Gly Thr Pro Gly Ser Ser Glu
 130 135 140

Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Arg Thr Pro Ser Thr Thr Ala Lys Ala
 35 145 150 155 160

Leu Gly Pro Arg Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro Pro
 165 170 175

40 Glu Ser Thr Val Val Val Ser Thr Pro Gly Ser Glu Ile Asn Leu Thr
 180 185 190

Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Val Pro Val Phe Asn Ile Val Ile Ile
 195 200 205

45 Val Ala Gly Gly Phe Leu Ser Lys Ser Leu Val Phe Ser Val Leu Phe
 210 215 220

Ala Val Thr Leu Arg Ser Phe Gly Pro
 50 225 230

<210> 8
 <211> 196
 <212> PRT
 55 <213> homo sapiens

<400> 8

60 Met Ser Arg Arg Ser Met Leu Leu Ala Trp Ala Leu Pro Ser Leu Leu
 1 5 10 15

Arg Leu Gly Ala Ala Gln Glu Thr Glu Asp Pro Ala Cys Cys Ser Pro
 20 25 30
 5 Ile Val Pro Arg Asn Glu Trp Lys Ala Leu Ala Ser Glu Cys Ala Gln
 35 40 45
 His Leu Ser Leu Pro Leu Arg Tyr Val Val Val Ser His Thr Ala Gly
 50 55 60
 10 Ser Ser Cys Asn Thr Pro Ala Ser Cys Gln Gln Gln Ala Arg Asn Val
 65 70 75 80
 Gln His Tyr His Met Lys Thr Leu Gly Trp Cys Asp Val Gly Tyr Asn
 15 85 90 95
 Phe Leu Ile Gly Glu Asp Gly Leu Val Tyr Glu Gly Arg Gly Trp Asn
 100 105 110
 20 Phe Thr Gly Ala His Ser Gly His Leu Trp Asn Pro Met Ser Ile Gly
 115 120 125
 Ile Ser Phe Met Gly Asn Tyr Met Asp Arg Val Pro Thr Pro Gln Ala
 130 135 140
 25 Ile Arg Ala Ala Gln Gly Leu Leu Ala Cys Gly Val Ala Gln Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Asn Tyr Val Leu Lys Gly His Arg Asp Val Gln Arg Thr
 30 165 170 175
 Leu Ser Pro Gly Asn Gln Leu Tyr His Leu Ile Gln Asn Trp Pro His
 180 185 190
 35 Tyr Arg Ser Pro
 195
 <210> 9
 <211> 330
 40 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 9
 45 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 50 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 55 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 60 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

	85	90	95
	Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
	100	105	110
5	Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
	115	120	125
	Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
10	130	135	140
	Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
	145	150	155 160
15	Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
	165	170	175
	Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
	180	185	190
20	His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
	195	200	205
	Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
25	210	215	220
	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
	225	230	235 240
30	Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
	245	250	255
	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
	260	265	270
35	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
	275	280	285
	Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
40	290	295	300
	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
	305	310	315 320
45	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	325	330	
	<210> 10		
	<211> 327		
50	<212> PRT		
	<213> homo sapiens		
	<400> 10		
55	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg		
	1	5	10 15
	Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
	20	25	30
60			

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 5 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 10 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 15 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 25 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 30 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 40 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 45 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 50 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 55 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325
 <210> 11
 <211> 330
 60 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgG1-Aba Heavy Chain Constant Region

5

<400> 11

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

10

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

15

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

20

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

25

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
100 105 110

30

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

35

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

40

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

45

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

50

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

55

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

60

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 5 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 10 <210> 12
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 15 <220>
 <223> IgG4-Aba Heavy Chain Constant Region
 <400> 12
 20 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 25 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 30 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 35 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
 40 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 45 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 50 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 55 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 60 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

	210	215	220
	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
	225	230	235 240
5	Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
	245	250	255
	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
10	260	265	270
	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
	275	280	285
15	Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
	290	295	300
	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
	305	310	315 320
20	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	325	330	
	<210> 13		
25	<211> 107		
	<212> PRT		
	<213> homo sapiens		
	<400> 13		
30	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
	1 5 10 15		
	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
35	20 25 30		
	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
	35 40 45		
40	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
	50 55 60		
	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
	65 70 75 80		
45	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
	85 90 95		
	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
50	100 105		
	<210> 14		
	<211> 121		
	<212> PRT		
55	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> mAb 0318 VH		
60	<400> 14		

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 5 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 10 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 15 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 20 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 25 <210> 15
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 30 <220>
 <223> mAb 0318 VL
 <400> 15
 35 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
 40 20 25 30
 Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 45 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 50 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 55 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 60 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

	130	135	140
	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		
	145	150	155 160
5	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr		
	165	170	175
	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys		
10	180	185	190
	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
	195	200	205
15	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
	210	215	
	<210> 16		
	<211> 121		
20	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 0318-IgG1.3f VH		
25	<400> 16		
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
	1 5 10 15		
30	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr		
	20 25 30		
	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	35 40 45		
	Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala		
	50 55 60		
40	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr		
	65 70 75 80		
	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
	85 90 95		
45	Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly		
	100 105 110		
	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
50	115 120		
	<210> 17		
	<211> 111		
	<212> PRT		
55	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 0318-IgG1.3f VL		
60	<400> 17		

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 5 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
 20 25 30
 Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 10 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 15 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 20 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 18
 <211> 121
 25 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318-IgG1.1f VH
 30 <400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 35 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 40 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 45 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 50 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 55 <210> 19
 <211> 111
 <212> PRT
 60 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 0318-IgG1.1f VL

5 <400> 19

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

10 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

15 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
20 65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

25 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 20

<211> 121

30 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 0318-IgG1-Aba VH

35 <400> 20

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

40 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
45 35 40 45

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

50 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

55 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

60 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21
 <211> 111
 <212> PRT
 5 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 0318-IgG1-Aba VL

 10 <400> 21

 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

 15 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
 20 25 30

 Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 20 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60

 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 25 65 70 75 80

 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95

 30 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

 <210> 22
 <211> 121
 35 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 0318-IgG4-Aba VH

 40 <400> 22

 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 45 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 50 35 40 45

 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60

 55 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 60

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 5 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 23
 <211> 111
 <212> PRT
 10 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318-IgG4-Aba VL
 15 <400> 23
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 20 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
 20 25 30
 Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 25 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 30 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 35 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 24
 <211> 5
 40 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318-IgG1.3f VH CDR1
 45 <400> 24
 Thr Tyr Ala Met His
 1 5
 50 <210> 25
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 55 <220>
 <223> 0318-IgG1.3f VH CDR2
 <400> 25
 60

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Val Lys Gly
 5

<210> 26
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 0318-IgG1.3f VH CDR3

15 <400> 26

Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
 1 5 10

20 <210> 27
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

25 <220>
 <223> 0318-IgG1.3f VL CDR1

<400> 27

30 Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
 1 5 10 15

<210> 28
 <211> 7
 35 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 0318-IgG1.3f VL CDR2

40 <400> 28

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

45 <210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

50 <220>
 <223> 0318-IgG1.3f VL CDR3

<400> 29

55 Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr
 1 5

60 <210> 30
 <211> 5

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 5 <223> 0318-IgG1.1f VH CDR1

 <400> 30

 Thr Tyr Ala Met His
 10 1 5

 <210> 31
 <211> 19
 <212> PRT
 15 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 0318-IgG1.1f VH CDR2

 20 <400> 31

 Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
 1 5 10 15

 25 Val Lys Gly

 <210> 32
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 0318-IgG1.1f VH CDR3
 35 <400> 32

 Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
 1 5 10
 40
 <210> 33
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 45
 <220>
 <223> 0318-IgG1.1f VL CDR1

 <400> 33
 50
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
 1 5 10 15

 <210> 34
 <211> 7
 55 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 60 <223> 0318-IgG1.1f VL CDR2

<400> 34
 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 5 1 5
 <210> 35
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318-IgG1.1f VL CDR3
 15 <400> 35
 Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr
 1 5
 20 <210> 36
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 25 <220>
 <223> 0318-IgG1-Aba VH CDR1
 <400> 36
 30 Thr Tyr Ala Met His
 1 5
 <210> 37
 <211> 19
 35 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318-IgG1-Aba VH CDR2
 40 <400> 37
 Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 45 Val Lys Gly
 <210> 38
 50 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 55 <223> 0318-IgG1-Aba VH CDR3
 <400> 38
 Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
 60 1 5 10

<210> 39
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 0318-IgG1-Aba VL CDR1

 10 <400> 39

 Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
 1 5 10 15

 15 <210> 40
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 20 <220>
 <223> 0318-IgG1-Aba VL CDR2

 <400> 40

 25 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

 <210> 41
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 0318-IgG1-Aba VL CDR3
 35 <400> 41

 Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr
 1 5
 40 <210> 42
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 45 <220>
 <223> 0318-IgG4-Aba VH CDR1

 <400> 42
 50 Thr Tyr Ala Met His
 1 5

 <210> 43
 <211> 19
 55 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 60 <223> 0318-IgG4-Aba VH CDR2

<400> 43

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Val Lys Gly

10 <210> 44
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

15 <220>
 <223> 0318-IgG4-Aba VH CDR3

<400> 44

20 Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 45
 <211> 15
 25 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 0318-IgG4-Aba VL CDR1

30 <400> 45

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
 1 5 10 15

35 <210> 46
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

40 <220>
 <223> 0318-IgG4-Aba VL CDR2

<400> 46

45 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

<210> 47
 50 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 55 <223> 0318-IgG4-Aba VL CDR3

<400> 47

Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr
 60 1 5

<210> 48
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> LSPGK (C-terminal end of heavy chain)

 10 <400> 48

 Leu Ser Pro Gly Lys
 1 5

 15 <210> 49
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 20 <220>
 <223> LSPG (C-terminal end of heavy chain)

 <400> 49

 25 Leu Ser Pro Gly
 1

 <210> 50
 <211> 451
 30 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 0318-IgG1.3f HC
 35 <400> 50

 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 40 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 45 35 40 45

 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 50 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 55 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 60 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

5 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

10 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
15 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

20 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

25 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
30 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

35 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

40 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
45 355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

50 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

55 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
60 435 440 445

Pro Gly Lys
450

5 <210> 51
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

10 <220>
<223> 0318-IgG1.1f HC

<400> 51

15 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
25 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
30 85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

35 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
40 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

45 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

50 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
55 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
225 230 235 240

60 Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

	245	250	255
	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
	260	265	270
5	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
	275	280	285
	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
10	290	295	300
	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
	305	310	315
	320		
15	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile		
	325	330	335
	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
	340	345	350
20	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
	355	360	365
	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
25	370	375	380
	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
	385	390	395
	400		
30	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
	405	410	415
	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
	420	425	430
35	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
	435	440	445
	Pro Gly		
40	450		
	<210> 52		
	<211> 451		
	<212> PRT		
45	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 0318-IgG1-Aba HC		
50	<400> 52		
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
	1	5	10
	15		
55	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr		
	20	25	30
	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
60			

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 5 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 10 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 20 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 25 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 35 225 230 235 240
 Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 50 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 60

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 5 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 10 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 15 Pro Gly Lys
 450
 <210> 53
 20 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 25 <223> 0318-IgG4-Aba HC
 <400> 53
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 30 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 35 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 40 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 45 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 50 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 55 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 60 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

5 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

10 Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
15 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

20 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

25 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
30 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

35 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

40 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
45 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

50 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

55 <210> 54
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

60

<220>

<223> 0318-IgG1.3f LC

<400> 54

5

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

10

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

15

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

20

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

25

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

30

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

35

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

40

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

45

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 55

<211> 218

50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 0318-IgG1.1f LC

55

<400> 55

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

60

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
 20 25 30
 Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 5 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 15 85 90 95
 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 20 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 25 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 30 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 35 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 40 <210> 56
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 45 <220>
 <223> 0318-IgG1-Aba LC
 <400> 56
 50 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
 20 25 30
 55 Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 60 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 5 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 10 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 15 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 20 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 25 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 30 210 215
 <210> 57
 <211> 218
 <212> PRT
 35 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318-IgG4-Aba LC
 40 <400> 57
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 45 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
 20 25 30
 Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 50 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 55 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 60 Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

	100	105	110	
	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	115	120	125	
5	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
	130	135	140	
10	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
	145	150	155	160
	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	165	170	175	
15	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
	180	185	190	
	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
	195	200	205	
20	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	210	215		
25	<210> 58			
	<211> 1407			
	<212> DNA			
	<213> Artificial Sequence			
30	<220>			
	<223> 0318-IgG1.3f HC			
	<400> 58			
	atgagggcct ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgcctggc cgaagtgcag	60		
35	ctcgtggagt ccggcggagg actggtcaa cctggcggct ccctgaagct gtcctgcgct	120		
	gcctccggct tcacctctc cacctacgcc atgcactggg tcaggcaggc ctccggaag	180		
	ggcctggaat gggtcggccg gattaggacc aagtccagca actacgctac ctactacgcc	240		
40	gccagcgtca agggccgggt cacaatctcc cgggacgact ccaagaacac cgcctatctc	300		
	cagatgaaca gcctgaagac agaggacacc gccgtgtact attgcacccg ggatatgggc	360		
45	attcggaggc agttcgcta ttggggccag ggcaccctgg tgacagtcag ctccgccagc	420		
	acaaaaggac ctacgctgtt cccctggcc cctagcagca agtcacacaag cggcggcacc	480		
	gctgccctgg gctgtctggt gaaagactac ttcccagac ccgtgacagt gagctggaac	540		
50	tctggcgccc tgacatccgg agtgacacacc ttccctgccg tgctccagtc cagcggcctg	600		
	tacagcctga gcagcgtcgt gaccgtccct agcagcagcc tgggaacca gacctacatc	660		
55	tgcaacgtga accacaagcc ctccaacacc aaggtggaca agaggggtga gccaagtcc	720		
	tgtgacaaga ccataacctg cccccctgt cctgctctg aagctgagg cgccccctcc	780		
60	gtcttctgt tccctctaa gccaaggac accctgatga tctccaggac ccccgaggtg	840		

acctgtgtgg tgggtgatgt gtcccacgag gaccccgagg tgaagttcaa ttgttacgtc 900

gacggcggtg aggtgcacaa cgccaagacc aaaccccggg aggagcagta taacagcacc 960

5 taccgggtgg tgtccgtgct caccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 1020

aagtgaagg tcagcaataa ggccctgcct gcccctatcg agaagaccat tagcaaggct 1080

aagggccagc ccaggaacc ccaggtgtat accctcccc ctagccggga ggagatgacc 1140

10 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtg aaaggattct accctagcga catcgctgtg 1200

gagtgggaga gcaatggaca gcccgagaac aactacaaaa ccaccctcc cgtctggac 1260

15 tccgatggca gcttcttct gtactccaag ctaccgtcg acaagagccg gtggcagcag 1320

ggcaatgtgt ttagctgctc cgtgatgcac gaggtctgc acaaccacta tacccaaaag 1380

tcctgtccc tcagccccgg caagtga 1407

20 <210> 59
<211> 1404
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

25 <220>
<223> 0318-IgG1.1f HC

<400> 59

30 atgagggctt ggatcttct tctgctctgc ctggccgggc gcgcctggc cgaagtgcag 60

ctggtggaaa gggcgagg actggtgcag ccaggcgga gcctgaagct gtctgcgcc 120

gccagcggt tcacctcag cacctacgcc atgactggg tccgccaggc cagcggaag 180

35 ggctggaat gggtcggac gatccggacc aagagcagca actacgccac ctactacgcc 240

gcctccgtga agggccggt caccatcagc cgggacgaca gcaagaacac cgctacctg 300

40 cagatgaaca gcctgaaaac cgaggacacc gccgtgtact actgcacccg ggacatgggc 360

atccggcggc agtttccta ctggggccag ggcaccctgg tcacagtgtc cagcgctcg 420

accaagggcc catcggtct cccctggca ccctctcca agagcacctc tgggggcaca 480

45 gggccctgg gctgctgt caaggactac tccccgaac cgtgacggt gtcgtggaac 540

tcaggcccc tgaccagcg cgtgcacacc tcccggctg tctacagtc ctaggactc 600

50 tactccctca gcagcgtgt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacca gacctacatc 660

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gccc aaatct 720

tgtgacaaaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aagccgaagg ggccccgtca 780

55 gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac ccctgaggtc 840

acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900

60 gacggcggtg aggtgcataa tgccaagaca aagcccggg aggagcagta caacagcacg 960

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtag 1020

5 aagtgaagg tctccaacaa agccctccca agcagcatcg agaaaacat ctcaaagcc 1080

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1140

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catgccctg 1200

10 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260

tccgacggct ccttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320

15 gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380

agcctctccc tgtccccggg ttga 1404

<210> 60

<211> 1407

20 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 0318-IgG1-Aba HC

25 <400> 60

atgagggcct ggatcttct tctgctctgc ctggccgggc gcgcctggc cgaggtccag 60

ctggtggaga gcggaggagg actcgtgcag cctggaggat ccctgaagct gtcctgcgt 120

30 gcctccggct ttacctctc cacctacgcc atgcattggg tgaggcaggc ctccggcaag 180

ggcctggaat ggggtggcag gatcaggaca aagagctcca actacgccac ctactacgcc 240

35 gccagcgtga aaggacggtt caccatctcc cgggacgatt ccaaaaacac cgctacctc 300

cagatgaata gcctgaagac cgaggacacc gccgtctact actgcaccag ggatatgggc 360

atccggcggc agtttgcta ctggggccag ggcaccctgg tgacagtgtc cagcgctagc 420

40 accaaaggcc cctccgtgt cccctggct cctccagca agtcacatc cggcggaacc 480

gccgctctgg gatgtctggt gaaggactac tccccgagc ccgtgacagt gagctggaac 540

45 tctggcgctc tgacctcgg cgtgcacacc ttctctctg tgctgcagtc ctccggcctc 600

tacagcctgt cctccgtct gacagtgcc tctccagcc tgggcacca gacctacatc 660

tgcaacgtga accacaagcc ttccaacacc aaggtggata agcgggtcga accaagagc 720

50 tgcgacaaga cccacaccag cccccctcc cctgctccc agctcctggg aggcagctcc 780

gtgtttctgt tccccccaa gcctaaggac accctgatga tcagcaggac cccgaagtg 840

55 acatgcgtgg tggtcgacgt gtcccacgag gaccccgagg tcaagttaa ctggtacgtg 900

gatggagtgg aggtcataa tgccaagacc aagccccggg aggagcagta caattccacc 960

taccgggtgg tgtccgtct gacagtctg catcaggact ggctcaacgg caaggagtag 1020

60

aaatgcaagg tgtccaacaa ggctctgccc gcccccatcg agaagacaat cagcaaggct 1080
 aaggggccagc ctaggggagcc ccagggtgtac accctgcccc ctccaggga cgagctcacc 1140
 5 aagaaccagg tgtccctgac atgcctcgtg aagggtttt accctagcga catcgctgtg 1200
 gagtgggagt ccaacggaca gcccgagaac aactacaaga caacaccccc tgtgctggac 1260
 tccgacggct cttcttct gtacagcaag ctaccgtgg acaaatcccg gtggcagcag 1320
 10 ggaaacgtgt tcagctgctc cgtgatgcat gaggccctgc acaaccatta caccagaaa 1380
 tccctgtccc tgtcccccg caagtga 1407
 15 <210> 61
 <211> 1407
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 20 <220>
 <223> 0318-IgG4-Aba HC
 <400> 61
 atgagggctt ggatcttct tctgctctgc ctggccgggc gcgcctggc cgaggtccag 60
 25 ctggtcgaga gcggcggagg actggtccag cctggaggat ccctgaagct ctctgtgcc 120
 gctagcggat ttacctcag cacctacgt atgcattggg tgaggcaggc ttccggcaag 180
 30 ggactggagt ggggtggacg gattcggacc aagagctcca attacgccac ctattacgcc 240
 gcttccgtga agggccggtt caccatctcc agggacgact ccaagaacac cgcttacctg 300
 cagatgaact cctcaagac cgaggacacc gccgtgtatt actgcaccg ggacatgggc 360
 35 atccggaggc agttcgctta ttggggacag ggcaccctgg tgaccgtgag ctccgcctcc 420
 accaagggcc ctccgtgtt ccctctggcc ccctgtagca ggtccaccag cgagtccaca 480
 40 gctgctctgg gctgctgtt gaaggattat ttccccgagc ccgtgacagt gtcctggaat 540
 agcggcgccc tgacctccg cgctcatacc ttccctgccg tctgcaaag cagcggcctg 600
 tacagcctgt cctccgtgtt gacagtcctt tctccagcc tgggaacaa gacctacacc 660
 45 tgcaatgttg accacaagcc tagcaacacc aaggtggaca agaggtcga gcccaagtcc 720
 tgcgataaga cacacacctc cctccttcc cctgctctg agctgctcg cggaagcagc 780
 50 gtgttctgt tccctcctaa gcctaaggac accctgatga tcagccggac ccctgaggtg 840
 acctgtgtcg tgggtgacgt gtcccacgaa gaccccgagg tgaaattcaa ctggtacgtg 900
 gacggcgtcg aggtgcacaa cgctaagaca aaaccaggagg aggagcagta caattccacc 960
 55 taccgggtcg tgtccgtgt gaccgtgtg caccaggact ggctgaacgg caaagagtac 1020
 aagtgaagg tcagcaataa ggccctgcct gccccattg agaagaccat ttcaaggcc 1080
 60 aaggggccagc ccagggaacc tcagggtgtac accctgcctc cctcccgga cgagctgacc 1140

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctcgtg aagggtctt accctagcga catgccgtg 1200

gagtgggagt ccaacggcca gcctgagaac aattacaaga ccaccccc tgctctggac 1260

5 tccgacggat cttcttct gtactccaag ctgacagtgg ataagtccg gtggcagcag 1320

ggaaatgtgt tctctgctc cgtcatgcac gaagccctgc ataaccacta cacacagaag 1380

10 agcctgtccc tgagccctgg caagtga 1407

<210> 62
<211> 708
<212> DNA
15 <213> Artificial Sequence

<220>
<223> 0318-IgG1.3f LC

20 <400> 62
atgagggctt ggatcttct tctgctctgc ctggccgggc ggccttggc cgatatcgtg 60

ctgaccaga gcccgatag cctggctgtg agcctgggcg agagagccac catcaactgc 120

25 agggcctccc agagcgtcga caccttcgac tacagcttc tccactgga ccagcagaag 180

cctggccagc ccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtgcc 240

30 gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttacc tcaccatcag ctccctgcag 300

gccgaggatg tggcgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta caccttggc 360

cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccgcc cctccgtgt catcttcct 420

35 cccagcgacg agcagctgaa gagcgggaacc gccagcgtgg tgtgctgct gaacaactc 480

taccacaggg aggccaaagt gcagtgaag gtcgacaac ccctgcagag cggcaatagc 540

caggagagcg tgaccgaaca ggacagcaag gactccact actccctgag cagcaccctg 600

40 acctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag 660

ggactgagca gcccgtgac aaagagctt aacaggggcg agtgctga 708

45 <210> 63
<211> 708
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

50 <220>
<223> 0318-IgG1.1f LC

<400> 63
atgagggctt ggatcttct tctgctctgc ctggccgggc ggccttggc cgatatcgtg 60

55 ctgaccaga gcccgatag cctggctgtg agcctgggcg agagagccac catcaactgc 120

agggcctccc agagcgtcga caccttcgac tacagcttc tccactgga ccagcagaag 180

60 cctggccagc ccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtgcc 240

gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttaccc tcaccatcag ctccctgcag 300

gccgaggatg tggccgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta caccttggc 360

5 cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccgccc cctccgtgtt catcttcct 420

cccagcgacg agcagctgaa gagcgggaacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc 480

10 taccacaggg aggccaaggt gcagtgaag gtcgacaacg ccctgcagag cggcaatagc 540

caggagagcg tgaccgaaca ggacagcaag gactccacct actccctgag cagcaccctg 600

15 accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag 660

ggactgagca gcccgtgac aaagagctt aacaggggcg agtgctga 708

<210> 64

<211> 708

20 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 0318-IgG1-Aba LC

25 <400> 64

atgagggtt ggatcttct tctgctctgc ctggccgggc ggccttggc cgatatcgtg 60

ctgaccaga gcccgatag cctggctgtg agcctgggag agagagccac catcaactgc 120

30 agggcctccc agagcgtcga caccttcgac tacagcttc tccactggta ccagcagaag 180

cctggccagc ccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtgcgc 240

35 gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttaccc tcaccatcag ctccctgcag 300

gccgaggatg tggccgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta caccttggc 360

cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccgccc cctccgtgtt catcttcct 420

40 cccagcgacg agcagctgaa gagcgggaacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc 480

taccacaggg aggccaaggt gcagtgaag gtcgacaacg ccctgcagag cggcaatagc 540

45 caggagagcg tgaccgaaca ggacagcaag gactccacct actccctgag cagcaccctg 600

accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag 660

ggactgagca gcccgtgac aaagagctt aacaggggcg agtgctga 708

50 <210> 65

<211> 708

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

55 <220>

<223> 0318-IgG4-Aba LC

<400> 65

60 atgagggtt ggatcttct tctgctctgc ctggccgggc ggccttggc cgatatcgtg 60

ctgaccaga gccccgatag cctggctgtg agcctgggcg agagagccac catcaactgc 120
 5 agggcctccc agagcgtcga cacctcgac tacagcttc tccactggta ccagcagaag 180
 cctggccagc cccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtgtccc 240
 gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttacc tcaccatcag ctccctgcag 300
 10 gccgaggatg tggccgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta caccttggc 360
 cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccgcc cctccgtgt catcttcct 420
 cccagcgacg agcagctgaa gagcgaacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc 480
 15 taccacaggg aggccaaagt gcagtgaag gtcgacaacg ccctgcagag cggcaatagc 540
 caggagagcg tgaccgaaca ggacagcaag gactccacct actccctgag cagcacctg 600
 20 accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag 660
 ggactgagca gccccgtgac aaagagcttt aacaggggcg agtgctga 708

25 <210> 66
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30 <220>
 <223> 0318 Ab - VH CDR1

<400> 66

35 Thr Tyr Ala Met His
 1 5

40 <210> 67
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 0318 Ab - VH CDR2

45 <400> 67

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 1 5 10 15

50 Val Lys Asp

55 <210> 68
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

60 <220>
 <223> 0318 Ab - VH CDR3

<400> 68
 Asp Met Gly Gln Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
 1 5 10
 5
 <210> 69
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 10
 <220>
 <223> 0318 Ab - VL CDR1
 <400> 69
 15
 Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
 1 5 10 15
 <210> 70
 20 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 25 <223> 0318 Ab - VL CDR2
 <400> 70
 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 30 1 5
 <210> 71
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318 Ab - VL CDR3
 40 <400> 71
 Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
 1 5
 45 <210> 72
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 50 <220>
 <223> 0318 AB - VH CDR3 (mutant)
 <400> 72
 55 Asp Gln Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
 1 5 10
 <210> 73
 <211> 10
 60 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318 AB - VH CDR3 (mutant)
 5
 <400> 73
 Asp Leu Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
 1 5 10
 10
 <210> 74
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 15
 <220>
 <223> 0318 Ab - VH CDR1 (mutant)
 <400> 74
 20
 Thr Tyr Ala Gln His
 1 5
 <210> 75
 25 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 30 <223> 0318 Ab - VH CDR1 (mutant)
 <400> 75
 Thr Tyr Ala Leu His
 35 1 5
 <210> 76
 <211> 451
 <212> PRT
 40 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 0318 Ab - HC (IgG4)
 45 <400> 76
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 50 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 55 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 60 65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

5 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

10 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
15 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

20 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

25 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
30 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

35 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

40 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
45 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

50 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

55 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
60 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

5 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val
435 440 445

10 Ser Leu Gly
450

<210> 77
15 <211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
20 <223> WT IgG1 Constant Region (Allotypic Variant)

<400> 77

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
25 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

30 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

35 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
40 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

45 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

50 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
55 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

60 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

	195	200	205
	Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
	210	215	220
5	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
	225	230	235 240
10	Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
	245	250	255
	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
	260	265	270
15	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
	275	280	285
	Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
	290	295	300
20	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
	305	310	315 320
	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
25	325	330	
	<210> 78		
	<211> 330		
	<212> PRT		
30	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> IgG1.1f HC Constant Region		
35	<400> 78		
	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
	1	5	10 15
40	Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
	20	25	30
	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
	35	40	45
45	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
	50	55	60
	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
50	65	70	75 80
	Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
	85	90	95
55	Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
	100	105	110
	Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
	115	120	125
60			

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 5 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 10 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 15 Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 20 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 25 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 30 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 35 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 40 <210> 79
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 45 <220>
 <223> IgG1.3f HC Constant Region
 <400> 79
 50 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 55 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 60 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 5 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 10 Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 15 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 20 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 25 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 30 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 35 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 40 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 45 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 50 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 80
 <211> 5
 55 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Linker
 60

<400> 80
 Pro Val Gly Val Val
 1 5
 5
 <210> 81
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 10
 <220>
 <223> 318 Ab - Mutant
 <400> 81
 15
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 25 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 30 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg Asp Gln Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 35 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 40 <210> 82
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 45 <220>
 <223> 319 Ab - Mutant
 <400> 82
 50 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 55 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 60 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 5 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg Asp Leu Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 10 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 83
 15 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 20 <223> 320 Ab - Mutant
 <400> 83
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 25 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 30 Ala Gln His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 35 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 40 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 45 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 84
 <211> 121
 50 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 321 Ab - Mutant
 55 <400> 84
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 60

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
5 35 40 45

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
10 65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
15 85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
20 115 120

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з тригерним рецептором-1, який експресується на мієлоїдних клітинах (TREM-1), яке містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 або SEQ ID NO: 50, що не має С-кінцевого лізину та має SEQ ID NO: 49 (LSPG) на С-кінці, і де легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.
2. Антитіло за п. 1, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50, що не має С-кінцевого лізину та має SEQ ID NO: 49 (LSPG) на С-кінці, і де легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.
3. Виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з тригерним рецептором-1, який експресується на мієлоїдних клітинах (TREM-1), яке містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50, що не має С-кінцевого лізину та має SEQ ID NO: 49 (LSPG) на С-кінці, і де легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.
4. Виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з тригерним рецептором-1, який експресується на мієлоїдних клітинах (TREM-1), яке містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50 і легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.
5. Виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з тригерним рецептором-1, який експресується на мієлоїдних клітинах (TREM-1), яке містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 51 і легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.
6. Виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з тригерним рецептором-1, який експресується на мієлоїдних клітинах (TREM-1), яке містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 52 і легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.
7. Біспецифічна молекула, яка містить антитіло за будь-яким з пп. 1-6, зчеплене з молекулою, яка має другу зв'язуючу специфічність.
8. Нуклеїнова кислота, яка кодує антитіло за будь-яким з пп. 1-6.
9. Вектор, який містить нуклеїнову кислоту за п. 8.
10. Клітина-хазяїн, яка містить вектор за п. 9.
11. Імунокон'югат, який містить антитіло за будь-яким з пп. 1-6, зчеплене з агентом.
12. Фармацевтична композиція для інгібування активності TREM-1 при лікуванні запального захворювання або автоімунного захворювання, яка містить антитіло за будь-яким з пп. 1-6, біспецифічну молекулу за п. 7, нуклеїнову кислоту за п. 8, вектор за п. 9, клітину-хазяїна за п. 10 або імунокон'югат за п. 11 і носій.
13. Спосіб інгібування активності TREM-1 у індивідуума, який потребує цього, який включає введення індивідууму антитіла за будь-яким з пп. 1-6, біспецифічної молекули за п. 7 або імунокон'югата за п. 11.
14. Спосіб за п. 13, який додатково включає введення одного або декількох додаткових терапевтичних засобів.
15. Спосіб лікування запального захворювання або автоімунного захворювання, пов'язаного з експресією TREM-1, у індивідуума, який потребує цього, який включає введення індивідууму антитіла за будь-яким з пп. 1-6, біспецифічної молекули за п. 7 або імунокон'югата за п. 11.

16. Спосіб за п. 15, де запальне захворювання або автоімунне захворювання вибирають з групи, що складається з запального захворювання кишечника (IBD), хвороби Крона (CD), неспецифічного виразкового коліту (UC), синдрому подразненого кишечника, ревматоїдного артриту (RA), псоріазу, псоріатичного артриту, системного червоного вовчака (SLE), вовчакового нефриту, васкуліту, сепсису, синдрому системної запальної відповіді (SIRS), діабету типу I, хвороби Грейвса, розсіяного склерозу (MS), автоімунного міокардиту, хвороби Кавасакі, захворювання коронарної артерії, хронічного обструктивного захворювання легень, інтерстиціального захворювання легень, автоімунного тиреоїдиту, склеродермії, системного склерозу, остеоартриту, atopічного дерматиту, вітіліго, реакції "трансплантат-проти хазяїна", синдрому Шегрена, автоімунного нефриту, синдрому Гудпасчера, хронічної запальної демієлінізуючої поліневропатії, алергії, астми, інших автоімунних захворювань, які є результатом або гострого, або хронічного запалення, і будь-якої їх комбінації.

17. Спосіб за п. 16, де запальне захворювання або автоімунне захворювання являє собою хворобу Крона.

18. Спосіб за п. 16, де запальне захворювання або автоімунне захворювання являє собою неспецифічний виразковий коліт.

19. Спосіб інгібування активності TREM-1 при лікуванні хвороби Крона у індивідуума, який потребує цього, який включає введення індивідууму виділеного антитіла, де вказане виділене антитіло містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50, що не має C-кінцевого лізину та має SEQ ID NO: 49 (LSPG) на C-кінці, і де легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.

20. Спосіб інгібування активності TREM-1 при лікуванні неспецифічного виразкового коліту у індивідуума, який потребує цього, який включає введення індивідууму виділеного антитіла, де вказане виділене антитіло містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50, що не має C-кінцевого лізину та має SEQ ID NO: 49 (LSPG) на C-кінці, і де легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.

21. Спосіб інгібування активності TREM-1 при лікуванні хвороби Крона у індивідуума, який потребує цього, який включає введення індивідууму виділеного антитіла, де вказане виділене антитіло містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50 і легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.

22. Спосіб інгібування активності TREM-1 при лікуванні неспецифічного виразкового коліту у індивідуума, який потребує цього, який включає введення індивідууму виділеного антитіла, де вказане виділене антитіло містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, де важкий ланцюг містить SEQ ID NO: 50 і легкий ланцюг містить SEQ ID NO: 54.

Варіант	Аналіт	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/Ms)	KD (nM)
IgG1.3f	hu-TREM1	1.4E+06	1.3E-03	0.91
IgG1.3f	cy-TREM1	4.0E+05	1.4E-03	3.4

Фіг. 1A

Варіант	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	R_{max} (RU)	Chi^2 (RU ²)
IgG4 A	1.42E+06	1.43E-03	1.01E-09	333	0.234
IgG4 B	1.46E+06	1.43E-03	9.8E-10	334	0.228
IgG1.1f	1.64E+06	1.42E-03	8.66E-10	400	0.301
IgG1.3f	1.65E+06	1.40E-03	8.50E-10	373	0.282
IgG4-Aba CT (mod)	1.70E+06	1.51E-03	8.89E-10	374	0.25
IgG1-Aba CT (mod)	1.62E+06	1.45E-03	8.99E-10	342	0.255
IgG1.1f (мутант з зміною M на Q)	1.66E+06	1.88E-03	1.13E-09	347	0.277
IgG4 (мутант з зміною M на Q)	1.46E+06	1.85E-03	1.26E-09	376	0.262
IgG4 (мутант з зміною M на L)	1.29E+06	3.56E-03	2.75E-09	340	0.348

Фіг. 1B

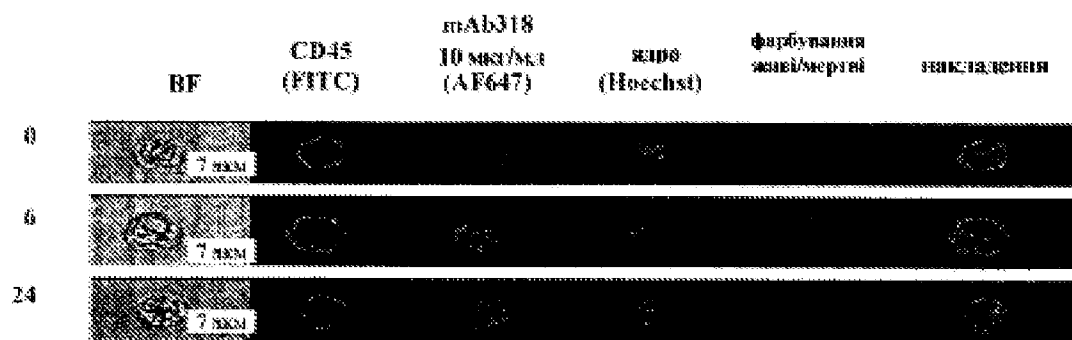


Fig. 2A

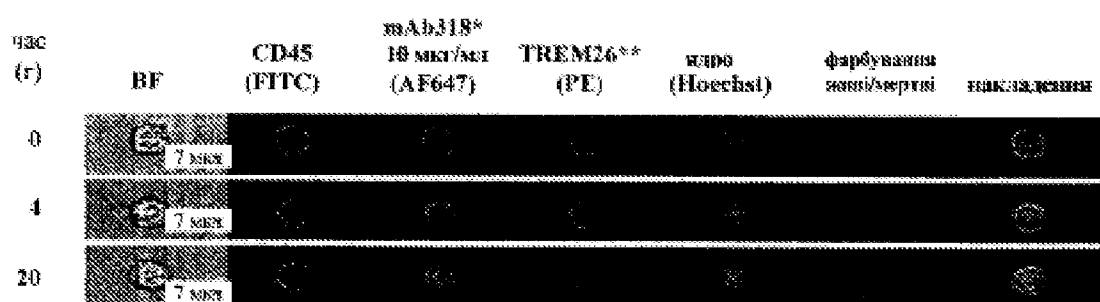


Fig. 2B

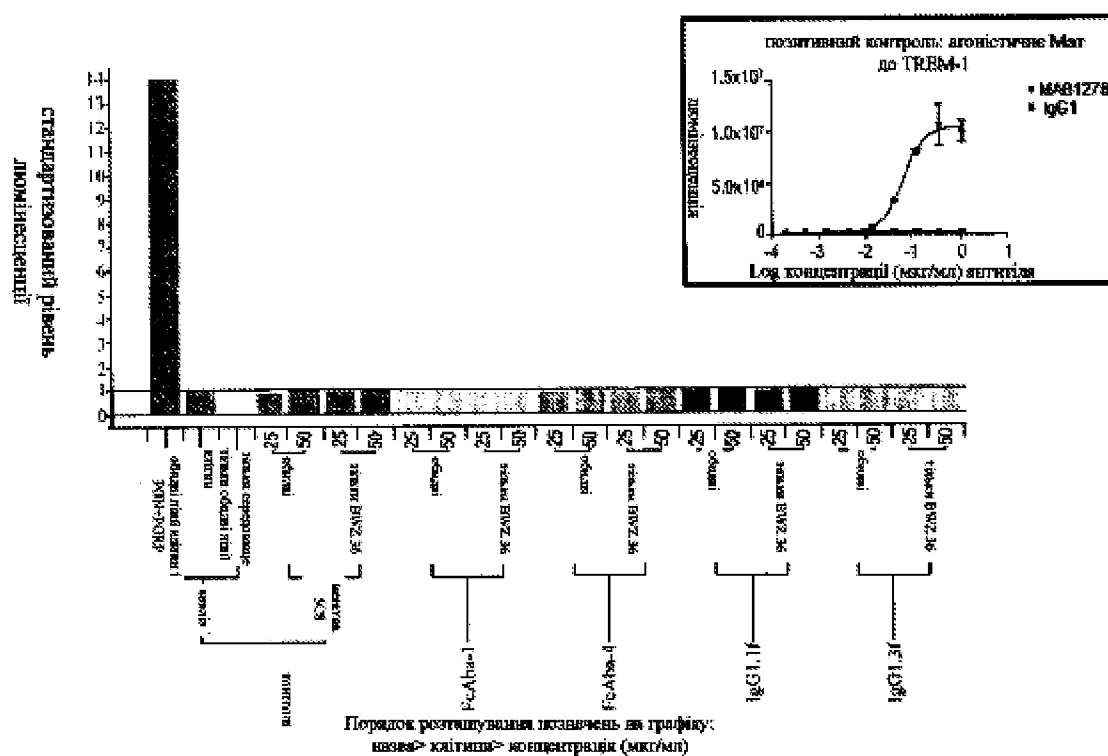


Fig. 3

Тип клітин	Аналіз	Стимул	mAb 0318-IgG4 IC ₅₀ (nM)	mAb 0318-IgG1,3F IC ₅₀ (nM)	mAb 0318-IgG1,1f IC ₅₀ (nM)	mAb 0318-IgG1-Abα IC ₅₀ (nM)	mAb 0318-IgG4-Abα IC ₅₀ (nM)
PBMC	TNF-α	PGRP + PGN-Ecdss	42 (N=3)	25 (N=12)	14 (N=9)	20 (N=3)	19 (N=3)
	IL-6		N/D	32.26 (N=2)	N/D	N/D	N/D
моноцити	TNF-α	PGRP + PGN-Ecdss	4 (N=3)	11 (N=9)	9 (N=12)	12.5 (N=3)	15.5 (N=3)
отримувов. ендотоксин лімфоцити моноцити	TNF-α	ендотоксин PGRP отримувов. PMA нейтрофіли	44 (N=3)	22 (N=6)	19 (N=6)	26 (N=6)	17 (N=6)
цільна кров лімфоцити освітлення RBC	TNF-α	PGRP + PGN-Ecdss	55 (N=6)	96 (N=6)	63 (N=9)	58 (N=3)	94 (N=3)
	IL-6		58.4 (N=6)	N/D	N/D	N/D	N/D
нейтрофіли	IL-8	PGRP + PGN-Ecdss	37.5 (N=3)	9 (N=3)	N/D	N/D	N/D

Фіг. 4

Донори	Експресія цитокіну IL-8 (pg/ml)			Інгибування mAb 0318-IgG1,3f	
	Тільки PGN	PGRP/PGN	Кратність зміни	Макс. інгибування (%)	IC ₅₀ (nM)
298	518	4886	9	81	11
294	391	2319	6	81	14
322	425	1420	3	82	11
344	393	1188	3	61	12
351	388	1318	3	92	9
356	276	1377	5	62	12
				Середн. IC ₅₀ (nM)	12
				Ст. відхилення IC ₅₀ (nM)	2

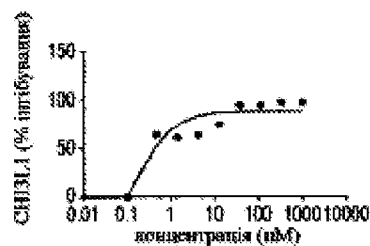
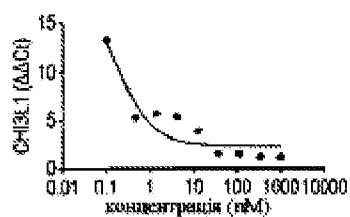
Фіг. 5A

Донори	%IL-8-позитивних клітин (тільки PGN)	%IL-8 ⁺ -клітин (PGRP+PGN)	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM) (середн. значення ± С.К.О.)
A	0.019	19.2	20.5	19.6±0.012
B	0.057	12.4	27.5	
C	0.043	21.1	36.0	
D	0.097	03.90	ND*	
E	0.025	29.25	5.2	
F	0.046	19.25	8.7	
G	0.021	04.04	ND*	

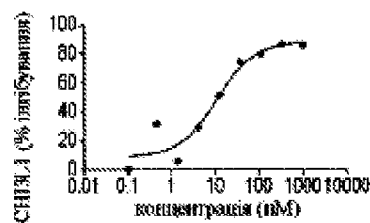
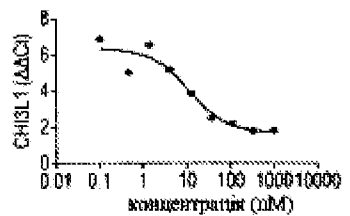
Фіг. 5Б

Донор №

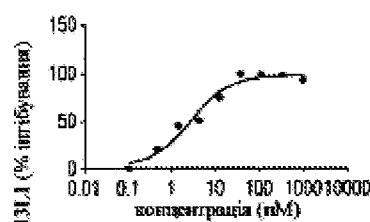
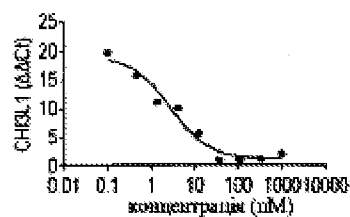
126



290



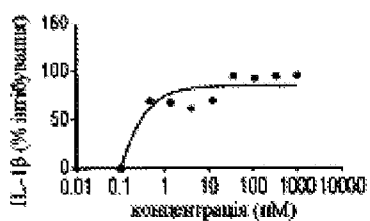
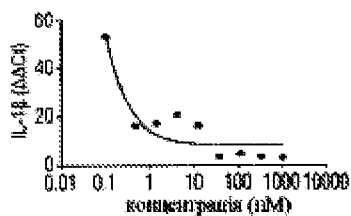
322



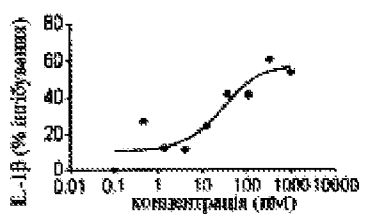
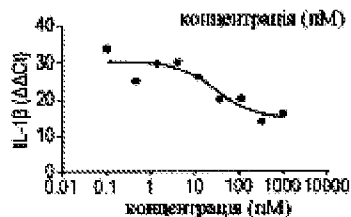
Фиг. 6А

Донор №

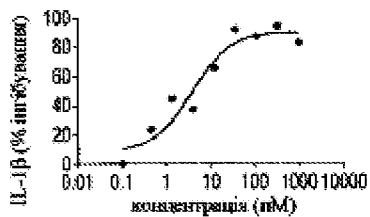
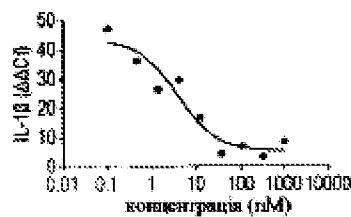
126



290



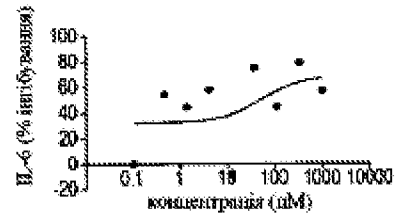
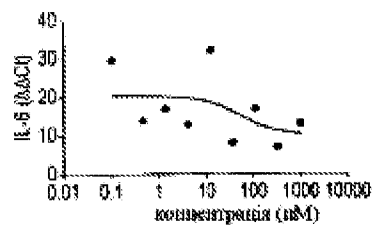
322



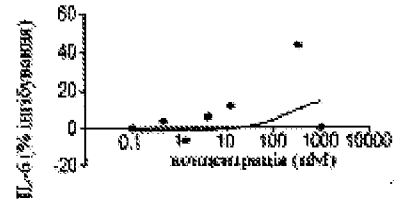
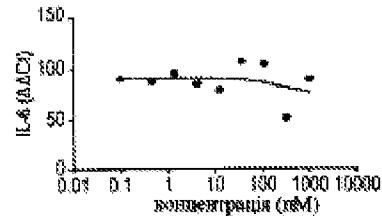
Фиг. 6Б

Донор №

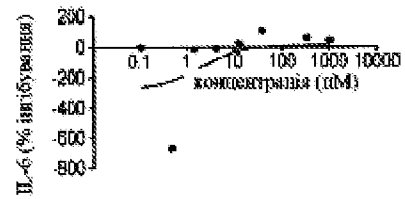
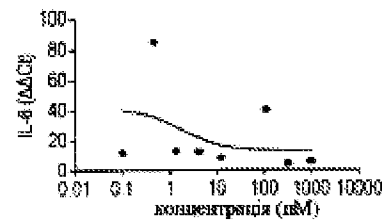
126



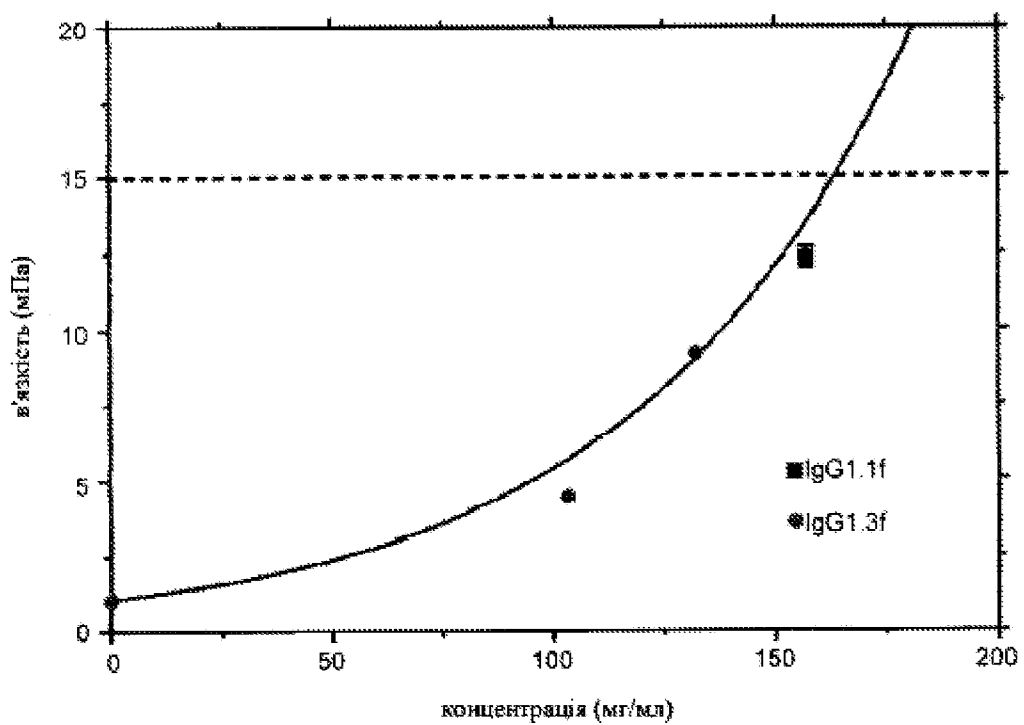
290



322

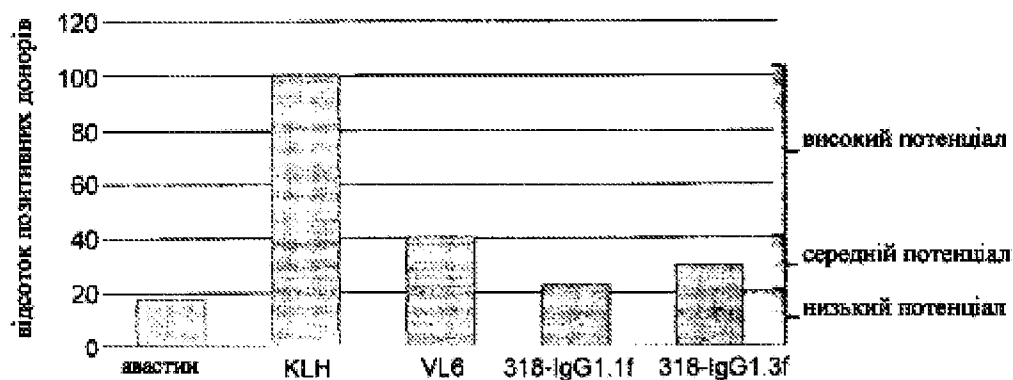


Фиг. 6В



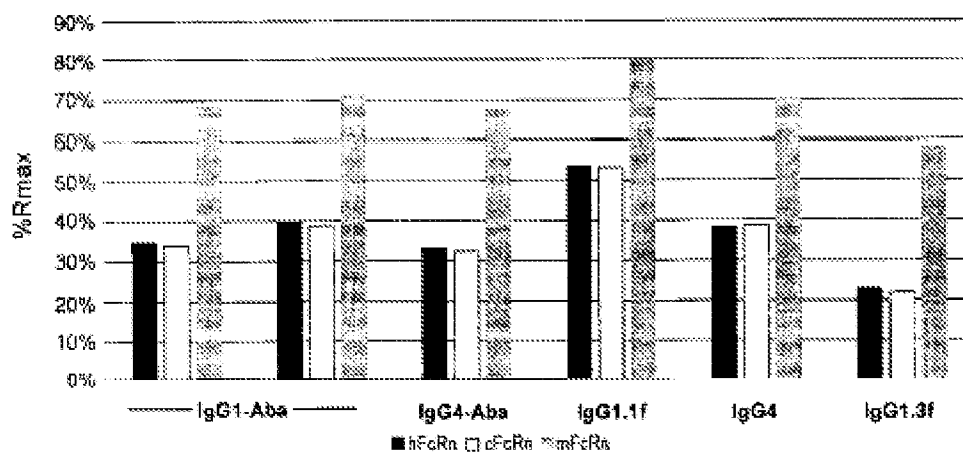
Фиг. 7

Імуногенний потенціал антитіла до TREM-1 (40 донорів PBMC)

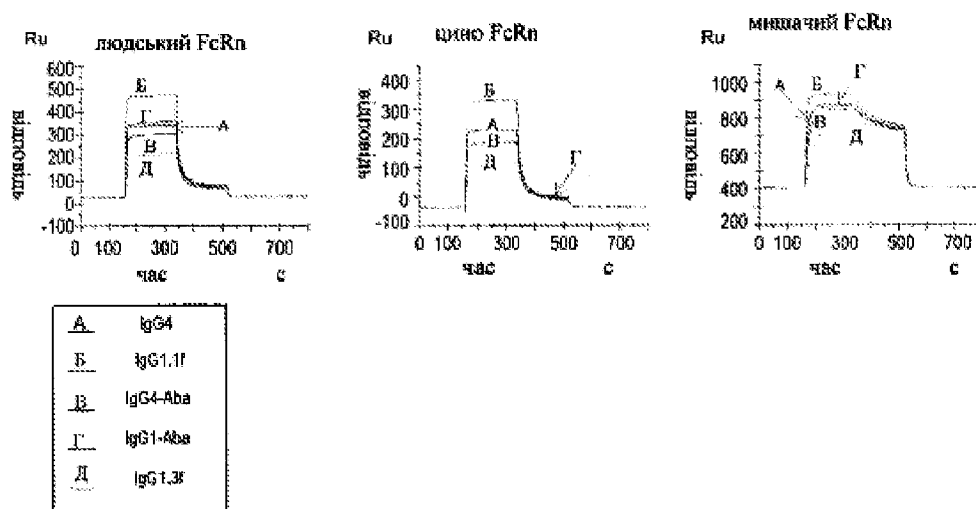


Фіг. 8

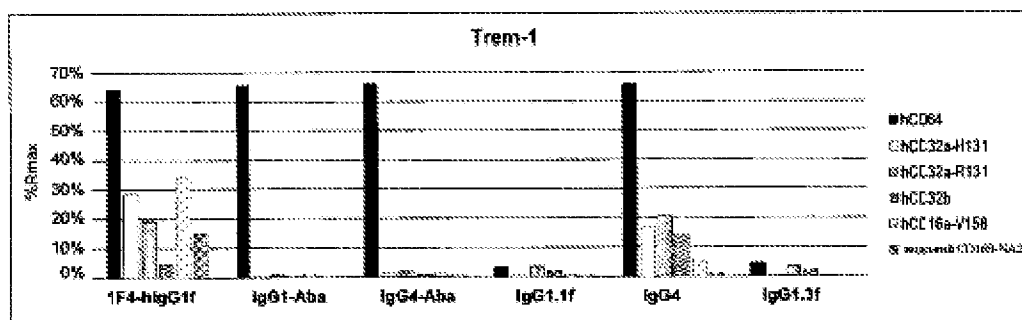
%Rmax зразків TREM-1, які зв'язуються з імобілізованим FcRn



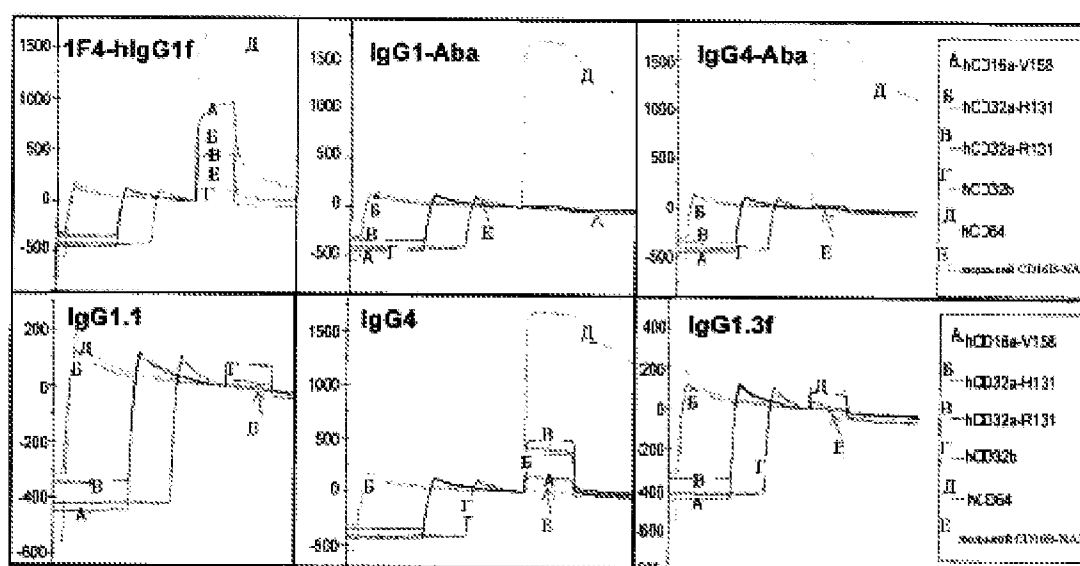
Фіг. 9A



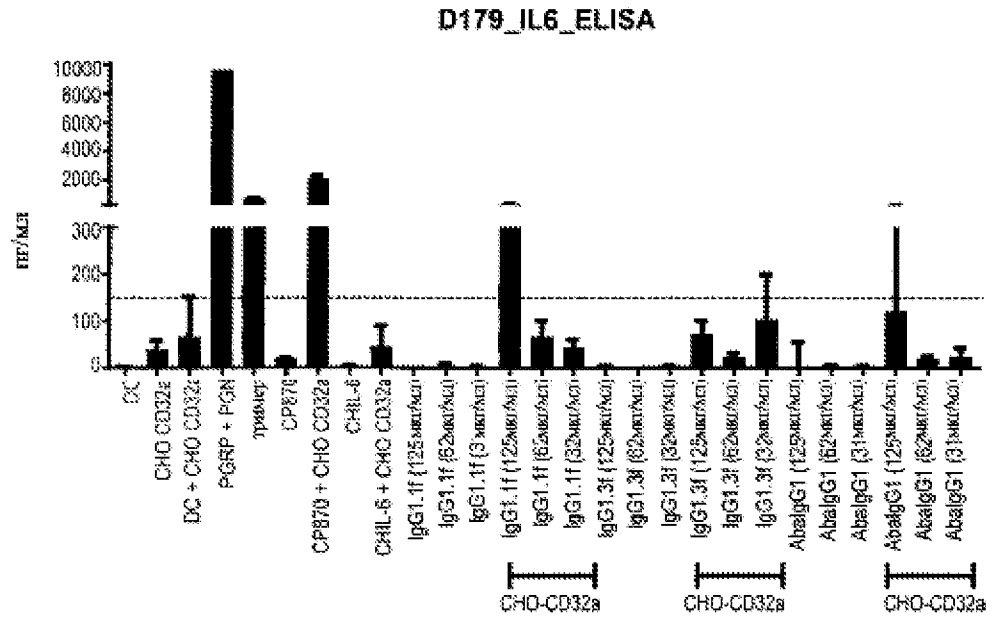
Фіг. 9Б



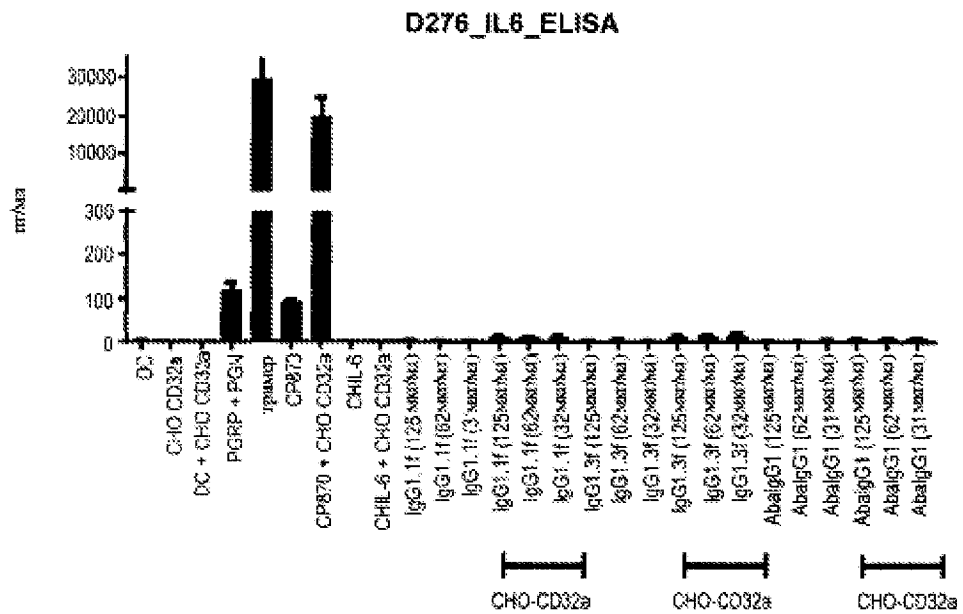
Фиг. 10А



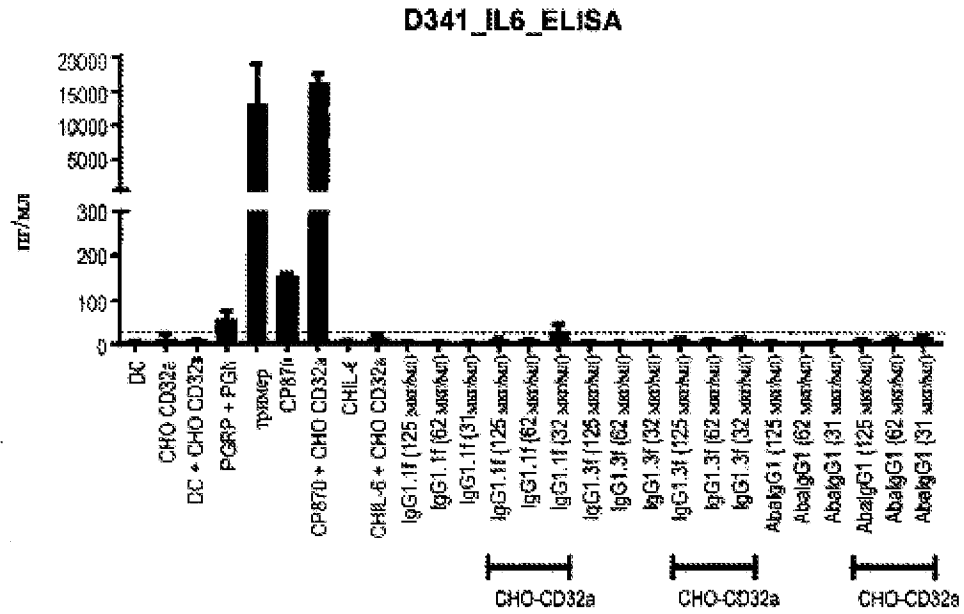
Фиг. 10Б



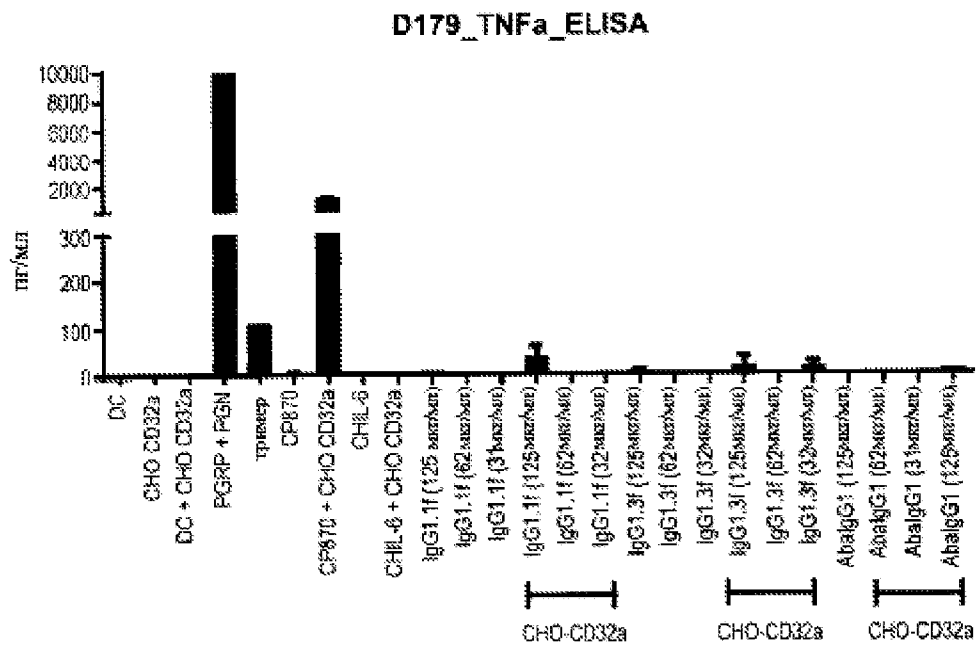
Φir. 11A



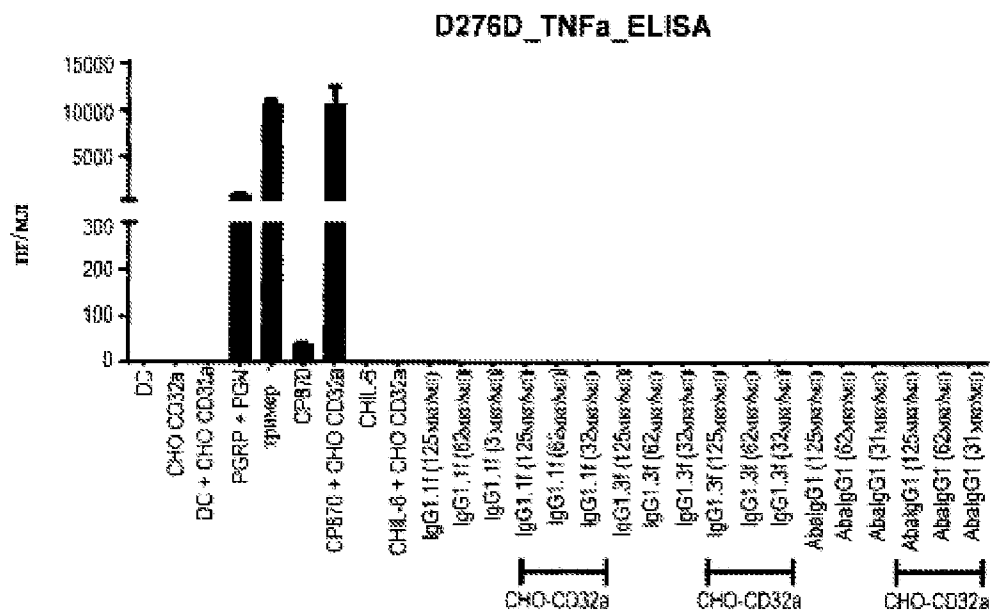
Φir. 11B



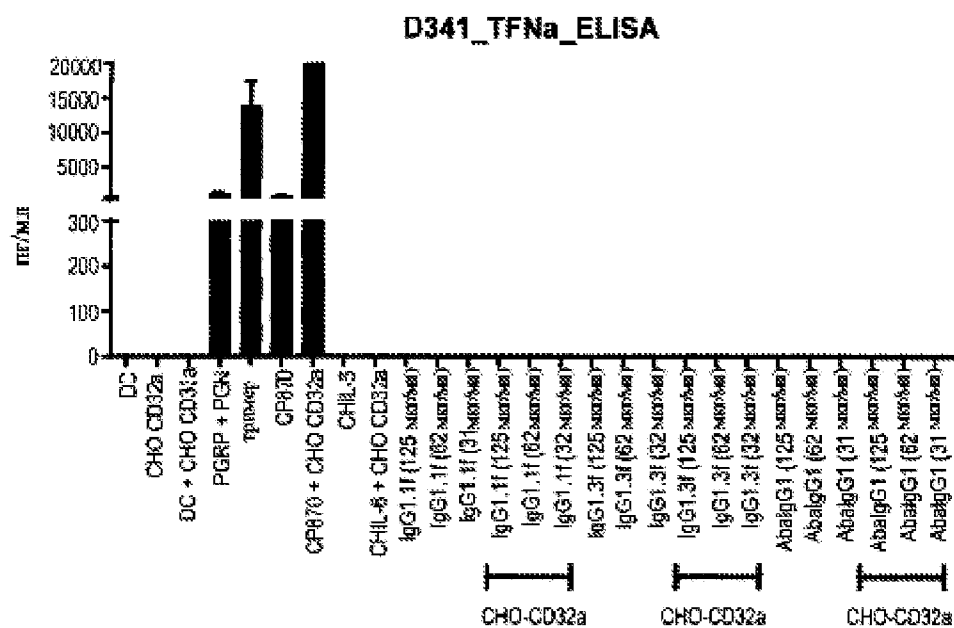
Фиг. 11В



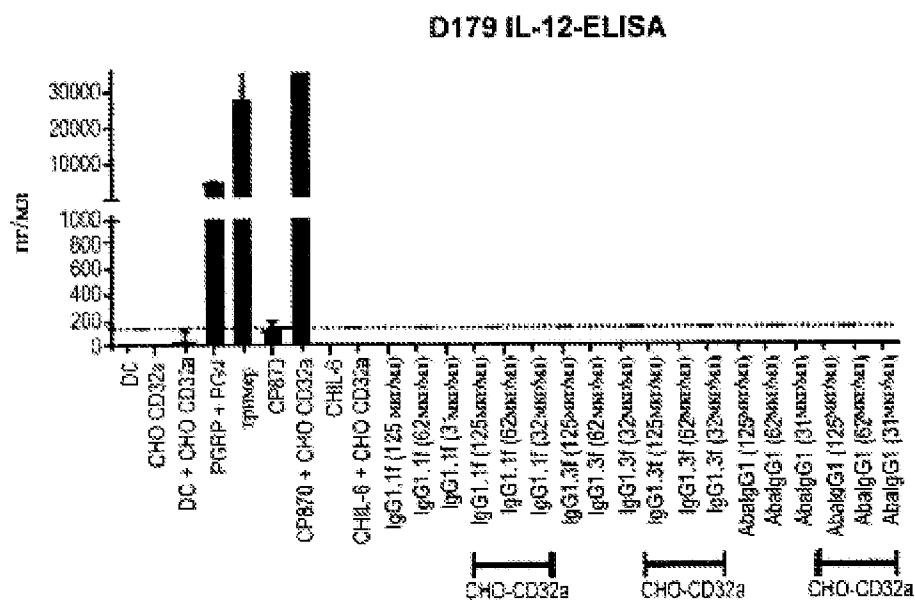
Фиг. 11Г



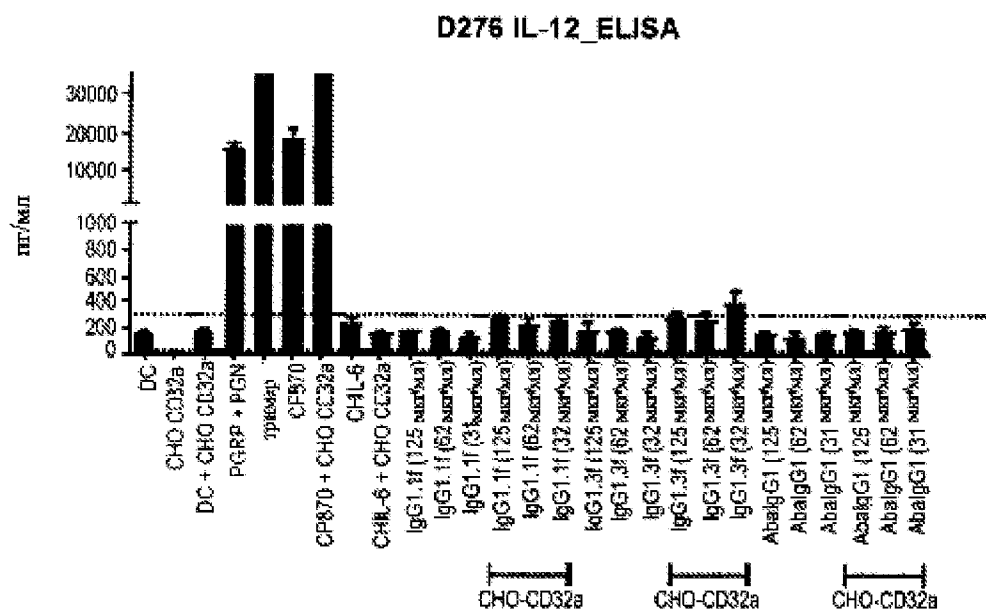
Фиг. 11Д



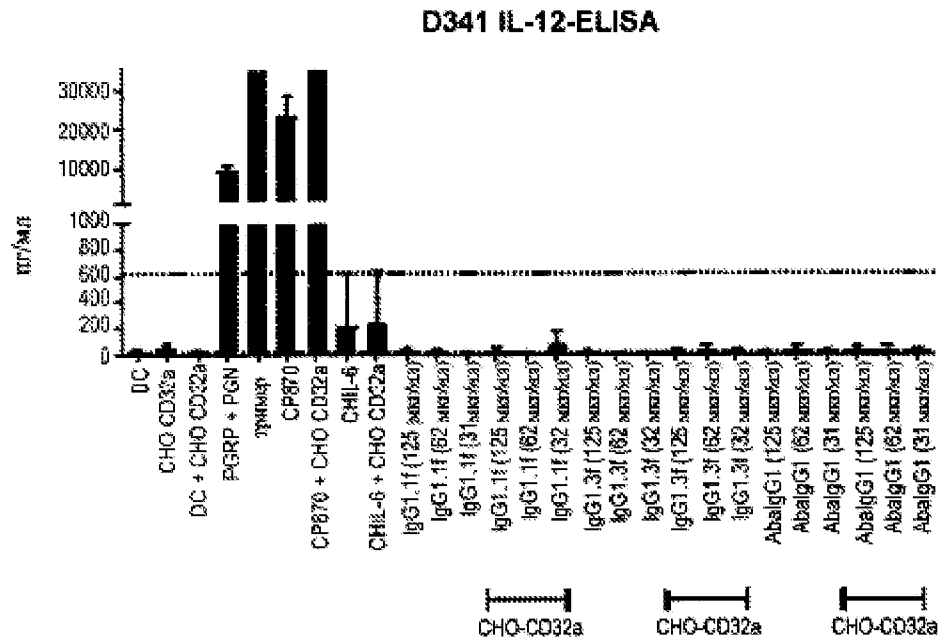
Фиг. 11Е



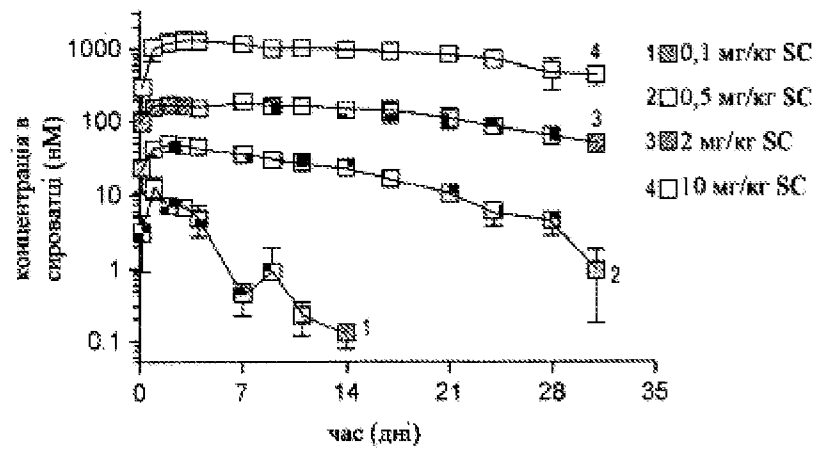
Фиг. 11Ж



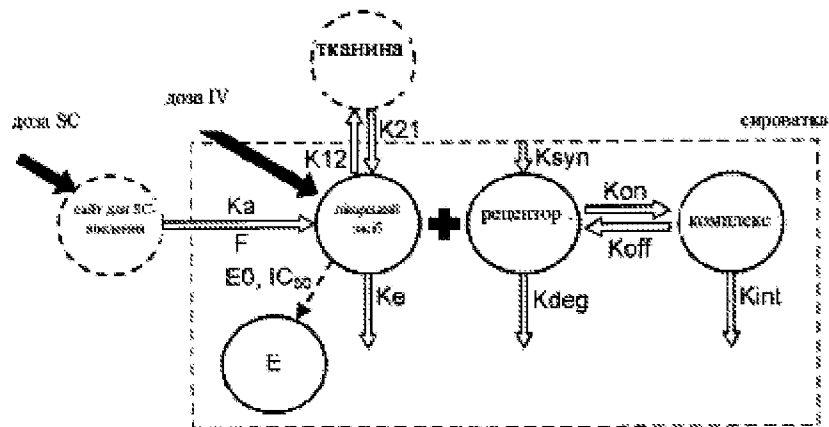
Фиг. 11З



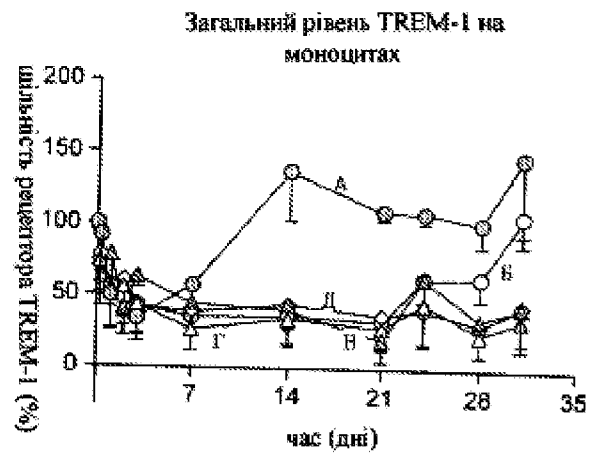
Фиг. 11И



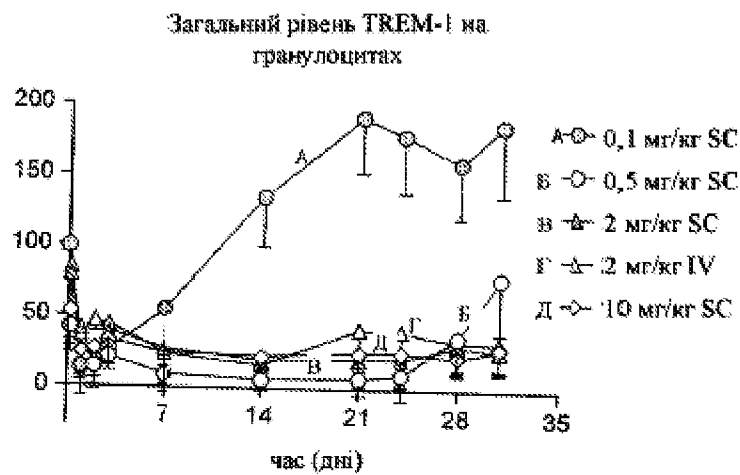
Фиг. 12



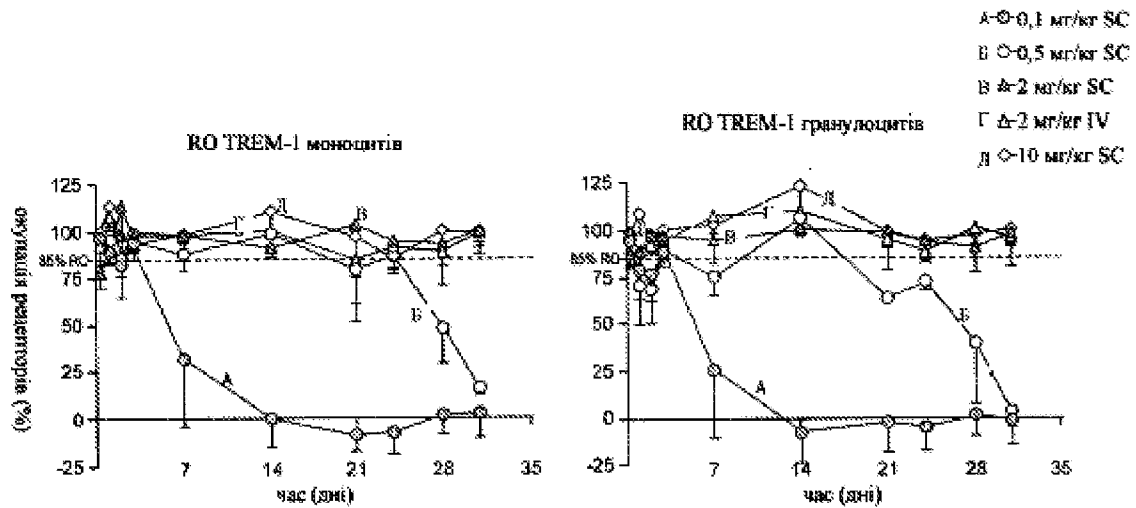
Фиг. 13



Фиг. 14А

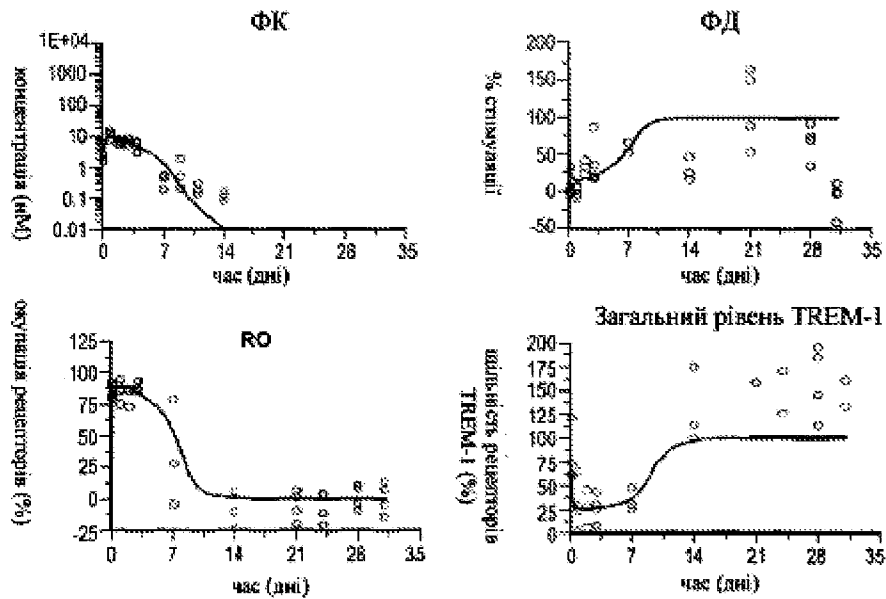


Фиг. 14Б

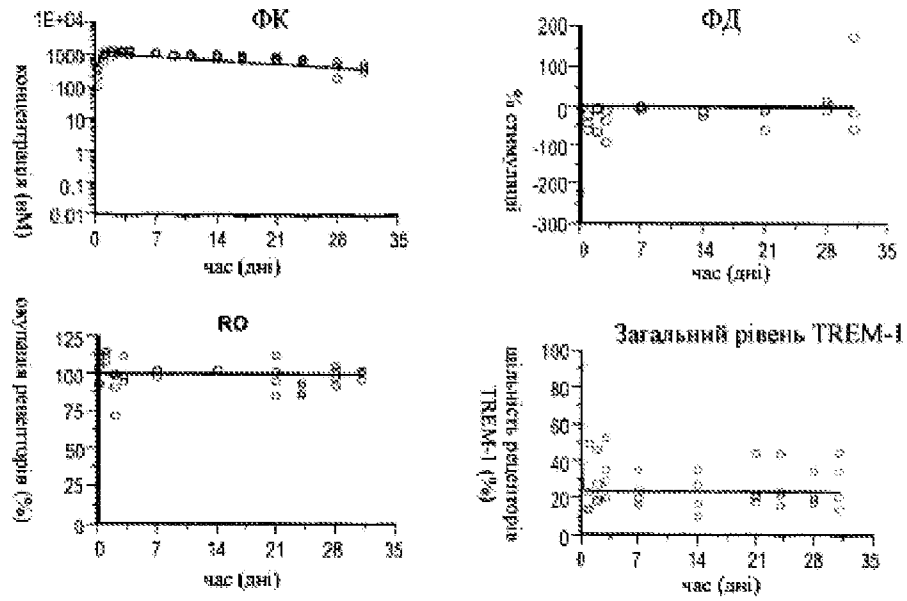


Фіг. 15А

Фіг. 15Б



Фіг. 16А



Фіг. 16Б