

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090689** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.08.28

(22) Дата подачи заявки
2018.10.23

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИСТОЩЕНИЯ КЛЕТОК CD117+

(31) 62/576,572; 62/596,569; 62/632,967;
62/638,053

(32) 2017.10.24; 2017.12.08; 2018.02.20;
2018.03.02

(33) US

(86) PCT/US2018/057180

(87) WO 2019/084064 2019.05.02

(88) 2019.06.20

(71) Заявитель:
МАДЖЕНТА ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Пирс Бредли Р., Кук Майкл, Бойтано
Энтони, Палчаудхури Рахул,
Макдонау Шон, Панвар Раджив,
Гленвилл Джейкоб (US)

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

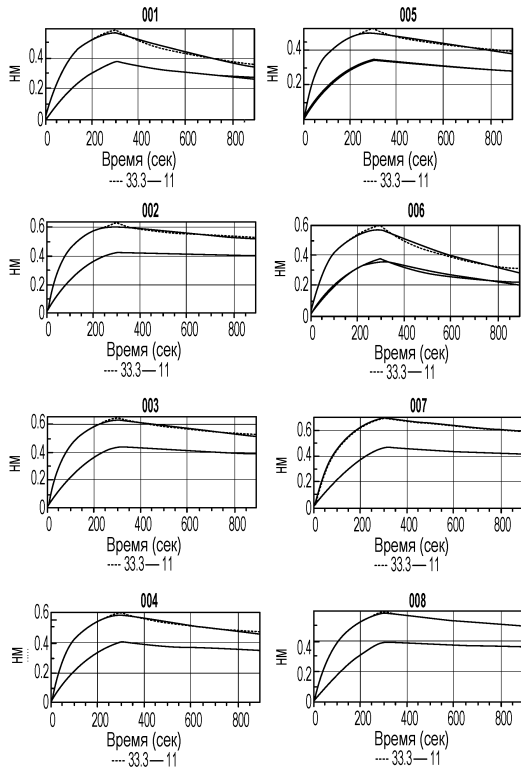
(57) В изобретении представлены композиции и способы, используемые для истощения клеток CD117+ и для лечения, среди прочего, различных гемопоэтических заболеваний, нарушений обмена веществ, рака, например, острого миелоидного лейкоза (AML) и аутоиммунных заболеваний. В данном документе описаны антитела, их антигенсвязывающие фрагменты и конъюгаты, которые можно использовать для осуществления лечения этих состояний, например, путем истощения популяции клеток CD117+ у пациента, такого как человек. Композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для непосредственного лечения заболевания, например, путем истощения популяции раковых клеток CD117+ или аутоиммунных клеток. Композиции и способы, описанные в данном документе, также можно использовать для подготовки пациента к трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками и для улучшения приживления трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток путем избирательного истощения эндогенных гемопоэтических стволовых клеток перед процедурой трансплантации.

202090689

A1

A1

202090689



ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-562544EA/032

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИСТОЩЕНИЯ КЛЕТОК CD117+

Родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США на выдачу патента № 62/576572, поданной 24 октября 2017 года; предварительной заявки США на выдачу патента № 62/596569, поданной 8 декабря 2017 года; предварительной заявки США на выдачу патента № 62/632967, поданной 20 февраля 2018 года; и предварительной заявки США на выдачу патента № 62/638053, поданной 2 марта 2018 года. Содержание каждой из приоритетных заявок включено в настоящий документ посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к антителам против CD117, конъюгатам антитело-лекарственное средство (ADC) и их антигенсвязывающим фрагментам, а также к способам лечения пациентов с разными патологиями, такими как, среди прочего, заболевания крови, нарушения обмена веществ, рак и аутоиммунные заболевания, путем введения антитела или конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC), способного связывать антиген, экспрессируемый гемопоэтической клеткой, такой как гемопоэтическая стволовая клетка.

Предшествующий уровень техники

Несмотря на достижения в области медицины по-прежнему существует потребность в лечении заболеваний кроветворной системы, таких как, среди прочего, заболевания определенных клеток крови, нарушения обмена веществ, злокачественные новообразования и аутоиммунные заболевания. Хотя гемопоэтические стволовые клетки обладают существенным терапевтическим потенциалом, ограничением, препятствующим их использованию в лечебном учреждении, была трудность, связанная с обеспечением приживления трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток у хозяина.

В настоящее время существует потребность в композициях, которые нацелены на конкретные эндогенные стволовые клетки, которые можно использовать в качестве модифицирующих средств, способствующих приживлению трансплантатов экзогенных гемопоэтических стволовых клеток таким образом, чтобы сохранять у пациента после трансплантации мультипотентную и гемопоэтическую функциональность этих клеток.

CD117 (также называемый c-kit или рецептор фактора стволовых клеток (SCRF)) представляет собой одну трансмембранную, рецепторную тирозинкиназу, которая связывает лиганд фактор стволовых клеток (SCF). SCF вызывает гомодимеризацию cKIT, что активирует активность ее тирозинкиназы и сигналы как по PI3-AKT, так и по MAPK путям (Kindblom et al. Am J. Path. 1998 152(5):1259).

Первоначально CD117 обнаружили в качестве онкогена и изучали в области онкологии (см., например, Stankov et al. (2014) Curr Pharm Des. 20(17):2849-80). Конъюгат антитело-лекарственное средство (КТН0158), направленный на CD117, в настоящее время исследуют для лечения рефракторных гастроинтестинальных стромальных опухолей

(GIST) (например, «КТN0158, гуманизированное моноклональное антитело против KIT, демонстрирует биологическую активность как против нормальных, так и против злокачественных тучных клеток собак» London et al. (2016) Clin Cancer Res DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2152).

CD117 экспрессируется на высоком уровне в гемопоэтических стволовых клетках (HSC). Этот характер экспрессии делает CD117 потенциальной мишенью для адаптации к широкому диапазону заболеваний. Однако все-таки остается потребность в терапии на основе антител против CD117, которая является эффективной для подготовки пациента к трансплантации, такой как трансплантация костного мозга.

Сущность изобретения

В данном документе описаны антитела и их антигенсвязывающие участки, которые специфически связываются с CD117 человека (также известный как c-kit), а также композиции и способы применения указанных антител. В частности, антитела и фрагменты, описанные в данном документе, можно использовать в конъюгатах антител против CD117-лекарственное средство (ADC).

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлены композиции и способы непосредственного лечения, среди прочего, различных заболеваний кроветворной системы, нарушений обмена веществ, злокачественных и аутоиммунных заболеваний. Кроме того, в изобретении предложены способы подготовки пациента, такого как пациент-человек, перед получением трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками, чтобы способствовать приживлению трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток. Пациентом может быть пациент с одним или несколькими заболеваниями крови, такими как гемоглобинопатия или другая патология кроветворения, и в связи с этим нуждающийся в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Как описано в данном документе, гемопоэтические стволовые клетки способны дифференцироваться во множество типов клеток в гемопоэтической линии, и их можно вводить пациенту, чтобы внедрить или повторно внедрить тип клеток, которых пациенту не хватает. Изобретение относится к способам лечения пациента антителами и конъюгатами антител-лекарственное средство (ADC), способными связывать белки, экспрессируемые гемопоэтическими клетками, такими как CD117 (включая, например, GDNF+ CD117), чтобы (i) непосредственно лечить заболевание, такое как, среди прочего, заболевание крови, метаболическое нарушение, рак или аутоиммунное заболевание, описанные в данном документе, путем избирательного истощения популяции клеток, которые экспрессируют CD117, таких как аберрантные клетки крови, раковые клетки или аутоиммунные клетки, и/или (ii) истощать популяцию эндогенных гемопоэтических стволовых клеток у пациента. Первое действие обеспечивает прямое лечение широкого диапазона заболеваний, связанных с клеткой гемопоэтической линии, так как CD117 может экспрессироваться раковой клеткой, такой как, среди других типов клеток, лейкозная клетка, аутоиммунным лимфоцитом, таким как Т-клетка, которая экспрессирует Т-клеточный рецептор, который вступает в перекрестную реакцию с аутоантигеном.

Последнее действие, избирательное истощение гемопоэтических стволовых клеток, в свою очередь, создает свободное место, которое впоследствии можно заполнить путем трансплантации экзогенного (например, аутологичного, аллогенного или сингенного) трансплантата гемопоэтических стволовых клеток. Таким образом, в изобретении представлены способы лечения множества нарушений гемопоэза, таких как, среди прочего, серповидноклеточная анемия, талассемия, анемия Фанкони, синдром Вискотта-Олдрича, аденозиндезаминазная недостаточность, тяжелый комбинированный иммунодефицит, метакроматическая лейкодистрофия, анемия Даймонда-Блэкфана и синдром Швахмана-Даймонда, вирусная инфекция иммунодефицита человека и синдром приобретенного иммунодефицита, а также рак и аутоиммунные заболевания.

В одном аспекте в изобретении представлен способ истощения популяции клеток CD117+ у пациента-человека путем введения эффективного количества антител, их антигенсвязывающих фрагментов, способных связывать CD117, когда антитело или фрагмент конъюгирован с цитотоксином (образуя ADC).

В другом аспекте в изобретении представлен способ истощения популяции клеток CD117+ у пациента-человека, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, путем введения, перед получением пациентом трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки, эффективного количества антител или их антигенсвязывающих фрагментов, способных связывать CD117, конъюгированных с цитотоксином (ADC).

В другом аспекте изобретение относится к способу, например, лечения пациента-человека, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, включающему введение пациенту-человеку трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки, туда, куда пациенту ранее ввели антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, способный связывать CD117, конъюгированный с цитотоксином (образуя ADC), в количестве, достаточном для истощения у пациента популяции клеток CD117+.

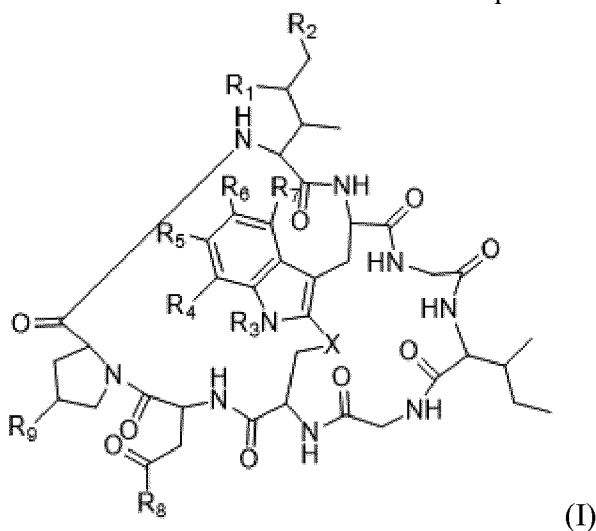
В дополнительном аспекте изобретение относится к способу, например, лечения пациента-человека, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, включающему: введение пациенту-человеку антител или их антигенсвязывающих фрагментов, способных связывать CD117, конъюгированных с цитотоксином (образуя ADC), в количестве, достаточном для истощения у пациента популяции клеток CD117+, и впоследствии введение пациенту трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки.

В любом из представленных выше аспектов цитотоксином может быть, например, экзотоксин *A* синегнойной палочки, дебуганин, дифтерийный токсин, аматоксин, такой как α -аманитин, сапорин, майтансин, майтанзиноид, ауристатин, антрациклин, калихимицин, иринотекан, SN-38, дуокармицин, пирролбензодиазепин, димер пирролбензодиазепаина, индолинбензодиазепин или димер индолинбензодиазепаина или их варианты.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов цитотоксином является аматоксин или его производное, такое как α -аманитин, β -аманитин,

γ -аманитин, ε -аманитин, аманин, аминамид, амануллин, амануллиновая кислота и проамануллин. В одном варианте осуществления цитотоксином является аманитин.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов цитотоксином является аматоксин, а антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированный с цитотоксином, представлен формулой Ab-Z-L-Am, в которой Ab представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, L представляет линкер, Z представляет химический фрагмент, а Am представляет аматоксин. В некоторых вариантах осуществления аматоксин конъюгирован с линкером. В некоторых вариантах осуществления конъюгат аматоксин-линкер Am-L-Z представлен формулой (I)



где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

R_C представляет -L-Z;

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил,

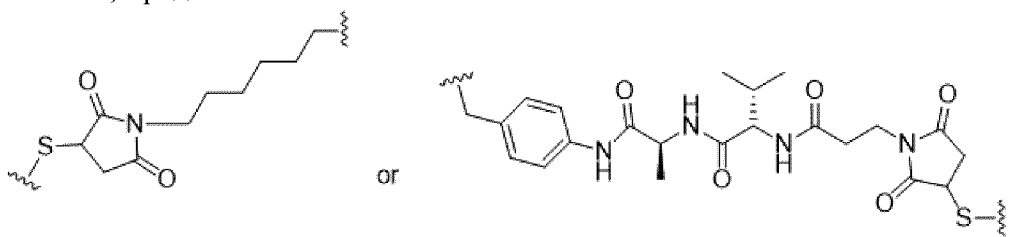
необязательно замещенный арил или optionally замещенный гетероарил;

L представляет линкер, такой как optionally замещенный алкилен (например, C₁-C₆ алкилен), optionally замещенный гетероалкилен (C₁-C₆ гетероалкилен), optionally замещенный алкенилен (например, C₂-C₆ алкенилен), optionally замещенный гетероалкенилен (например, C₂-C₆ гетероалкенилен), optionally замещенный алкинилен (например, C₂-C₆ алкинилен), optionally замещенный гетероалкинилен (например, C₂-C₆ гетероалкинилен), optionally замещенный циклоалкилен, optionally замещенный гетероциклоалкилен, optionally замещенный арилен, optionally замещенный гетероарил; дипептид, -(C=O)-, пептид или их комбинацию; а

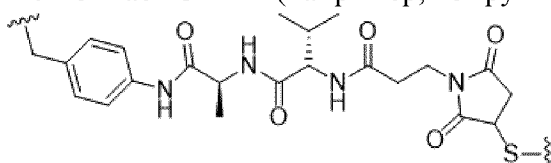
Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117).

В некоторых вариантах осуществления Am содержит ровно один R_C заместитель.

В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют

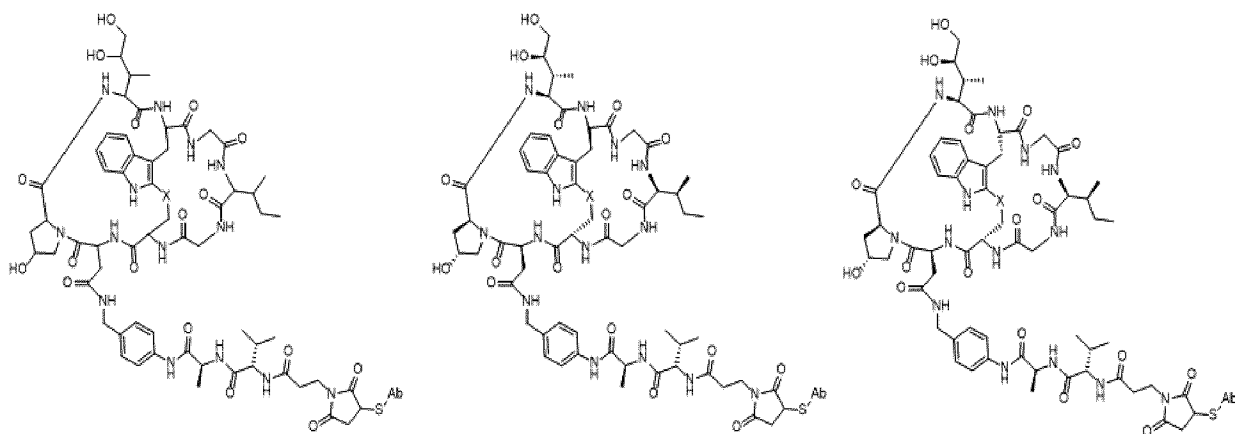


где S представляет атом серы, который представляет реакционноспособный заместитель, имеющийся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (например, из группы -SH цистеинового остатка).



В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

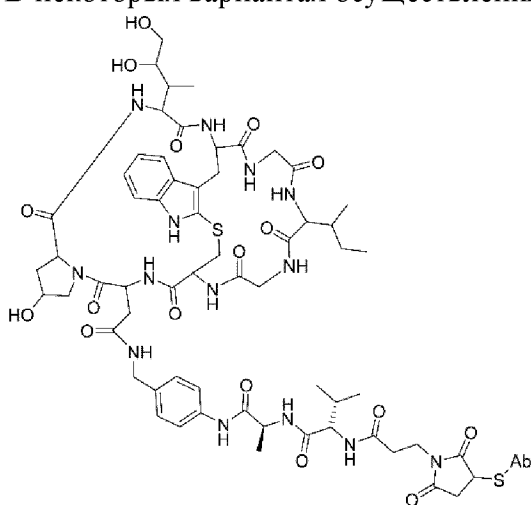
В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет одно из:



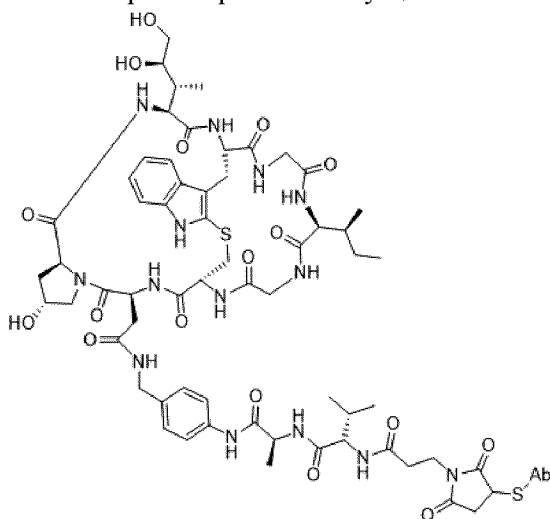
(IV) (IVA) (IVB)

где X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-.

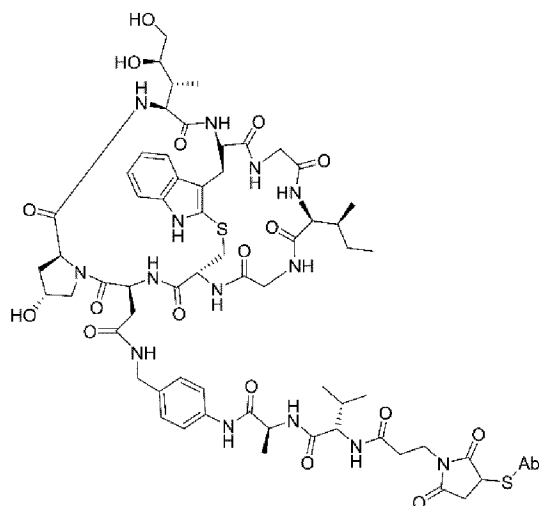
В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет:



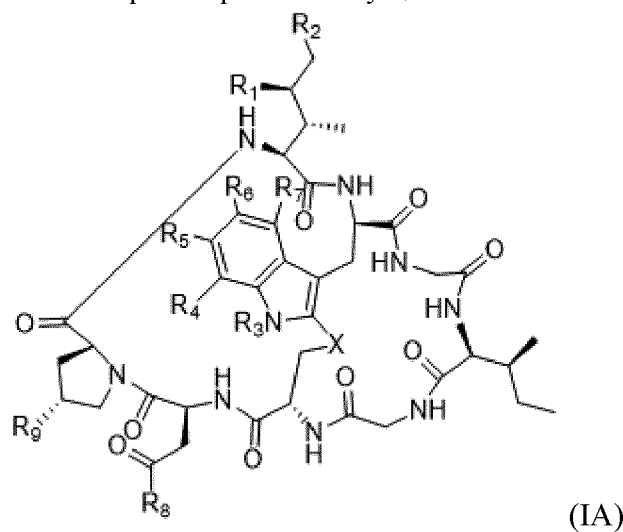
В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет:



В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет:



В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA)



(IA)

где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

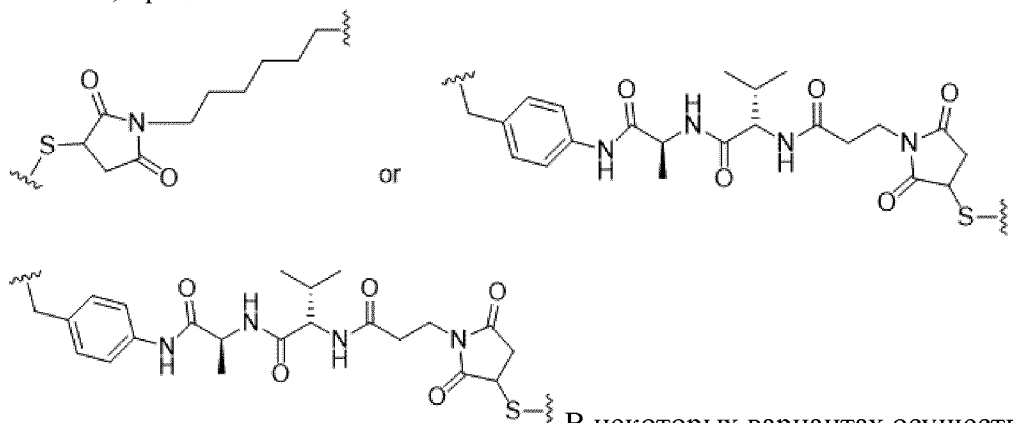
R_C представляет -L-Z;

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил

(например, C_2 - C_6 гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C_2 - C_6 алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C_2 - C_6 гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

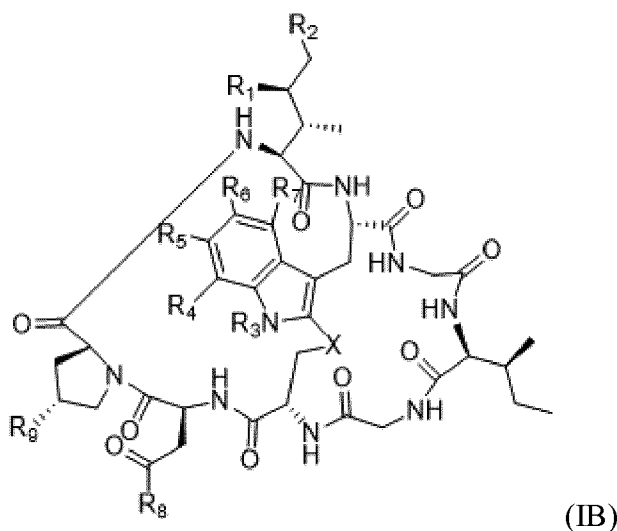
L представляет линкер, такой как необязательно замещенный алкилен (например, C_1 - C_6 алкилен), необязательно замещенный гетероалкилен (C_1 - C_6 гетероалкилен), необязательно замещенный алкенилен (например, C_2 - C_6 алкенилен), необязательно замещенный гетероалкенилен (например, C_2 - C_6 гетероалкенилен), необязательно замещенный алкинилен (например, C_2 - C_6 алкинилен), необязательно замещенный гетероалкинилен (например, C_2 - C_6 гетероалкинилен), необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, $-(C=O)-$, пептид или их комбинацию; Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117); и где Am содержит ровно один R_C заместитель.

В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IB)



где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

R_C представляет -L-Z;

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет линкер, такой как необязательно замещенный алкилен (например, C₁-C₆ алкилен), необязательно замещенный гетероалкилен (C₁-C₆ гетероалкилен), необязательно замещенный алкенилен (например, C₂-C₆ алкенилен), необязательно замещенный гетероалкенилен (например, C₂-C₆ гетероалкенилен), необязательно замещенный алкинилен (например, C₂-C₆ алкинилен), необязательно замещенный гетероалкинилен (например, C₂-C₆ гетероалкинилен), необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, -(C=O)-, пептид

или их комбинацию;

Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117); и где Am содержит ровно один R_C заместитель.

В некоторых вариантах осуществления R_A и R_B, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием 5-членной гетероциклоалкильной группы формулы:



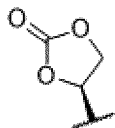
где Y представляет $-(C=O)-$, $-(C=S)-$, $-(C=NR_E)-$ или $-(CR_E R_{E'})-$; а

R_E и R_{E'} каждый независимо представляет необязательно замещенный C₁-C₆ алкилен-R_C, необязательно замещенный C₁-C₆ гетероалкилен-R_C, необязательно замещенный C₂-C₆ алкенилен-R_C, необязательно замещенный C₂-C₆ гетероалкенилен-R_C, необязательно замещенный C₂-C₆ алкинилен-R_C, необязательно замещенный C₂-C₆ гетероалкинилен-R_C, необязательно замещенный циклоалкилен-R_C, необязательно замещенный гетероциклоалкилен-R_C, необязательно замещенный арилен-R_C или необязательно замещенный гетероарил-R_C.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB), где R₁ представляет H, OH, OR_A или OR_C;

R₂ представляет H, OH, OR_B или OR_C;

R_A и R_B, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:



R₃ представляет H или R_C;

R₄ представляет H, OH, OR_C, OR_D, R_C или R_D;

R₅ представляет H, OH, OR_C, OR_D, R_C или R_D;

R₆ представляет H, OH, OR_C, OR_D, R_C или R_D;

R₇ представляет H, OH, OR_C, OR_D, R_C или R_D;

R₈ представляет OH, NH₂, OR_C или NHR_C;

R₉ представляет H или OH; и

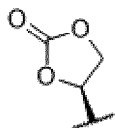
где R_C и R_D каждый соответствует определению выше.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R₁ представляет H, OH, OR_A или OR_C;

R₂ представляет H, OH, OR_B или OR_C;

R_A и R_B , вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:



R_3 представляет H или R_C ;

R_4 и R_5 каждый независимо представляет H, OH, OR_C , R_C или OR_D ;

R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C или NHR_C ;

R_9 представляет H или OH; и

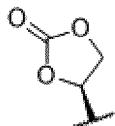
где R_C соответствует определению выше.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 представляет H, OH или OR_A ;

R_2 представляет H, OH или OR_B ;

R_A и R_B , вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:



R_3 , R_4 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_5 представляет OR_C ;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH; и

где R_C соответствует определению выше.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 представляет R_C ;

R_4 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_5 представляет H, OH или OC_1-C_6 алкил;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH; и

где R_C соответствует определению выше.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_4 и R_5 каждый независимо представляет H, OH, OR_C или R_C ;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет Н или ОН; и

где R_C соответствует определению выше.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 и R_2 каждый независимо представляет Н или ОН;

R_3 , R_6 и R_7 каждый представляет Н;

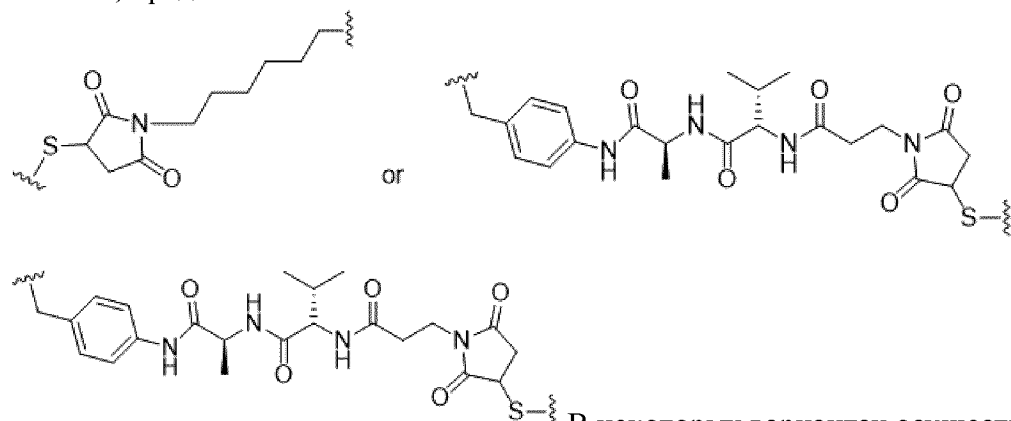
R_4 и R_5 каждый независимо представляет Н или ОН;

R_8 представляет ОН, NH_2 , OR_C или NHR_C ;

R_9 представляет Н или ОН; и

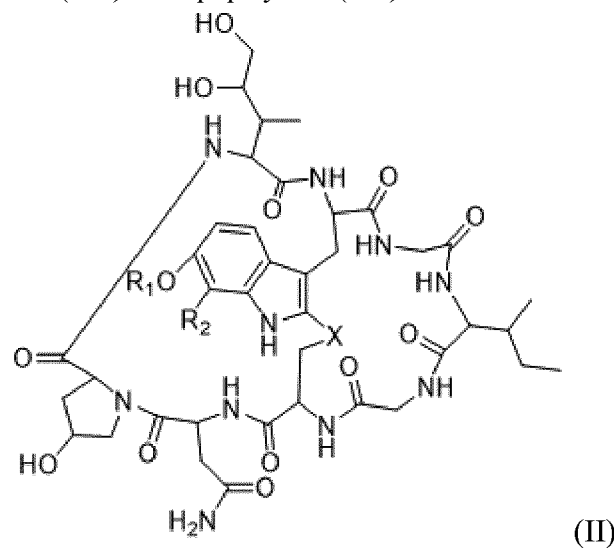
где R_C соответствует определению выше.

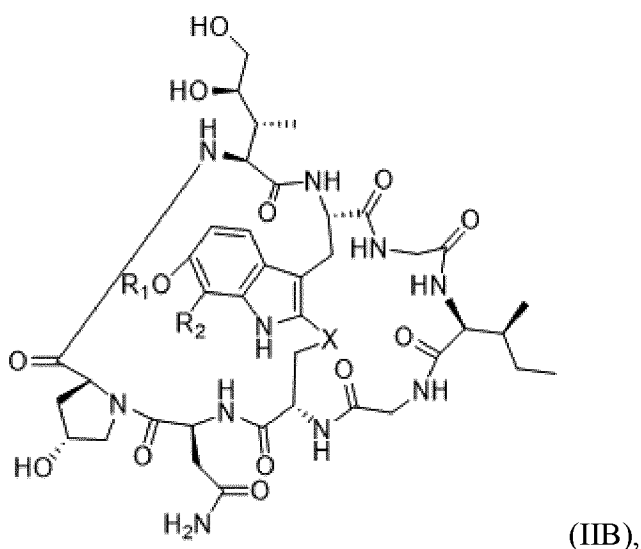
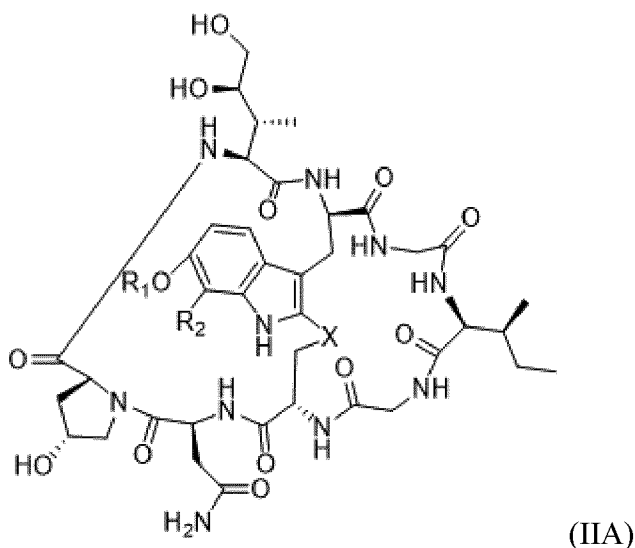
В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

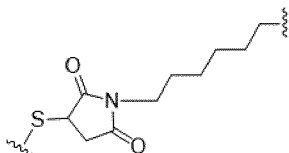
В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (II), формулой (IIA) или формулой (IIB)





где X представляет S, SO или SO₂; R₁ представляет Н или линкер, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; а R₂ представляет Н или линкер, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; где, когда R₁ представляет Н, R₂ представляет линкер, а когда R₂ представляет Н, R₁ представляет линкер.

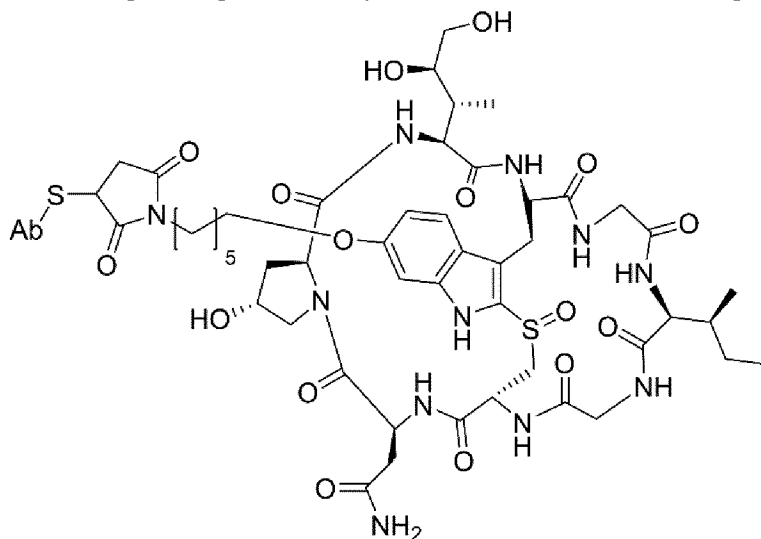
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено -(CH)_{2n}-, где n представляет целое число от 2 до 6.



В некоторых вариантах осуществления R₁ представляет

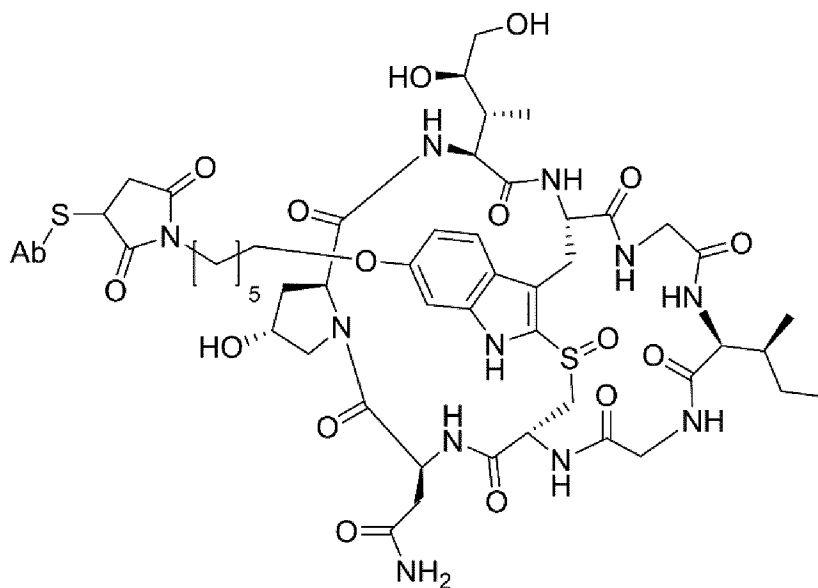
линкер, а R_2 представляет H, а линкер и химический фрагмент, вместе в виде L-Z, представляет

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет:



В некоторых вариантах

осуществления Am-L-Z-Ab представляет:



В некоторых вариантах

осуществления любого из представленных выше аспектов цитотоксином является майтанзиноид, выбираемый из группы, состоящей из DM1 и DM4. В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является ауристин, выбираемый из группы, состоящей из монометилауристатина E и монометилауристатина F. В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является антрациклин, выбираемый из группы, состоящей из даунорубина, доксорубина, эпирубина и идарубина.

В другом аспекте изобретение относится к способу истощения популяции клеток CD117+ у пациента-человека путем введения эффективного количества антител, их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, способных связывать GNNK+ CD117.

Кроме того, изобретение относится к способу истощения популяции клеток CD117+

у пациента-человека, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, путем введения, перед получением пациентом трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки, эффективного количества антител или их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, способных связывать GNNK+ CD117.

В другом аспекте изобретение относится к способу, например, лечения пациента-человека, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, включающему введение пациенту-человеку трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки, туда, куда пациенту ранее ввели антитела, их антигенсвязывающие фрагменты или ADC, способные связывать GNNK+ CD117 в количестве, достаточном для истощения у пациента популяции клеток CD117+.

В дополнительном аспекте изобретение относится к способу, например, лечения пациента-человека, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, включающему: введение пациенту-человеку антител, их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, способных связывать GNNK+ CD117 в количестве, достаточном для истощения у пациента популяции клеток CD117+, и впоследствии введение пациенту трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов антитело, его антигенсвязывающий фрагмент выбран из группы, состоящей из моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, поликлонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, гуманизированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, двойного вариабельного домена иммуноглобулина, одноцепочечной Fv-молекулы (scFv), диатела, триатела, нанотела, антителоподобного белкового каркаса, фрагмента Fv, фрагмента Fab, молекулы F(ab')₂ и tandemного di-scFv. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет изотип, выбираемый из группы, состоящей из IgG, IgA, IgM, IgD и IgE.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов антитело или его антигенсвязывающий фрагмент после введения пациенту интернализируется гемопоэтической клеткой, такой как гемопоэтическая стволовая клетка, раковая клетка или аутоиммунная клетка. Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или ADC могут интернализироваться гемопоэтическими стволовыми клетками, раковыми клетками или аутоиммунными клетками с помощью опосредованного рецепторами эндоцитоза (например, при связывании с клеточной поверхностью CD117, такой как GNNK+ CD117). В некоторых вариантах осуществления цитотоксин, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, может внутриклеточно высвобождаться за счет химического расщепления (например, за счет ферментативного или неспецифического расщепления линкера, описанного в данном документе). Затем цитотоксин может получить доступ к своей внутриклеточной мишени (такой как, среди прочего, аппарат митотического веретена, ядерная ДНК, рибосомная РНК или топоизомеразы), способствуя гибели эндогенной гемопоэтической клетки, такой как,

среди прочего, эндогенная гемопоэтическая стволовая клетка перед трансплантационной терапией, эндогенная раковая клетка или эндогенная аутоиммунная клетка.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или ADC способен содействовать некрозу гемопоэтической клетки, такой как, среди прочего, гемопоэтическая стволовая клетка, раковая клетка или аутоиммунная клетка. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент при введении пациенту может способствовать гибели, среди прочего, эндогенной гемопоэтической стволовой клетки перед трансплантационной терапией, эндогенной раковой клетки или эндогенной аутоиммунной клетки путем рекрутинга одного или нескольких белков комплемента, клеток естественных киллеров (NK), макрофагов, нейтрофилов и/или эозинофилов в клетку, такую как гемопоэтическая стволовая клетка.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов трансплантат, содержащий гемопоэтические стволовые клетки, вводят пациенту после того, как кровь пациента по существу не содержит никакой концентрации антител, их антигенсвязывающих фрагментов или ADC.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов гемопоэтические стволовые клетки или их потомство сохраняют функциональный потенциал гемопоэтических стволовых клеток спустя два и более дней (например, от приблизительно 2 до приблизительно 5 дней, от приблизительно 2 до приблизительно 7 дней, от приблизительно 2 до приблизительно 20 дней, от приблизительно 2 до приблизительно 30 дней, например, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день, 22 дня, 23 дня, 24 дня, 25 дней, 26 дней, 27 дней, 28 дней, 29 дней, 30 дней или более) после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток пациенту.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов гемопоэтические стволовые клетки или их потомство способны локализоваться в гемопоэтическую ткань, такую как костный мозг, и/или восстанавливать гемопоэз после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток пациенту.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов при трансплантации пациенту гемопоэтические стволовые клетки вызывают восстановление популяции клеток, выбираемых из группы, состоящей из мегакариоцитов, тромбоцитов, кровяных пластинок, эритроцитов, тучных клеток, миобластов, базофилов, нейтрофилов, эозинофилов, микроглий, гранулоцитов, моноцитов, остеокластов, антигенпрезентирующих клеток, макрофагов, дендритных клеток, клеток естественных киллеров, Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов способ используют для лечения одного или нескольких заболеваний, например, путем истощения популяции гемопоэтических стволовых клеток у пациента перед трансплантационной терапией гемопоэтическими стволовыми клетками, чтобы обеспечить

нишу, в которой могут находиться трансплантированные гемопоэтические стволовые клетки. После трансплантации гемопоэтические стволовые клетки могут установить продуктивный гемопоэз, чтобы восполнить недостающий тип клеток у пациента или тип клеток, который активно уничтожается или был уничтожен, например, химиотерапевтическими методами. Например, пациентом может быть пациент с нарушением функции стволовых клеток. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется гемоглобинопатия, например, серповидноклеточная анемия, талассемия, анемия Фанкони, апластическая анемия и синдром Вискотта-Олдрича. У пациента может быть иммунодефицитное состояние, такое как врожденное иммунодефицитное состояние или приобретенное иммунодефицитное состояние (например, вирус иммунодефицита человека или синдром приобретенного иммунодефицита). В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется нарушение обмена веществ, например, болезни накопления гликогена, мукополисахаридозы, болезнь Гоше, болезнь Гурлера, сфинголипидоз и метакроматическая лейкодистрофия. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется заболевание, выбираемое из группы, состоящей из аденозиндезаминазной недостаточности и тяжелого комбинированного иммунодефицита, синдрома гипериммуноглобулина М, болезни Чедиака-Хигаши, наследственного лимфогистиоцитоза, остеопетроза, незавершенного остеогенеза, болезней накопления, большой талассемии, системного склероза, системной красной волчанки и ювенильного ревматоидного артрита. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется аутоиммунное заболевание, такое как склеродермия, рассеянный склероз, язвенный колит, болезнь Крона и диабет 1 типа. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак или миелопролиферативное заболевание, например, гемобластоз. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется острый миелоидный лейкоз (AML), острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома или неходжкинская лимфома. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется миелодиспластическое заболевание, такое как миелодиспластический синдром.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов способ используют для непосредственного лечения рака, такого как рак, характеризующийся клетками CD117+ (например, лейкоз, характеризующийся клетками CD117+), путем введения антител или их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, которые истощают популяцию раковых клеток CD117+ у пациента, и/или путем введения антител или их антигенсвязывающих фрагментов для истощения популяции эндогенных гемопоэтических стволовых клеток перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. В последнем случае трансплантация может, в свою очередь, восстанавливать, например, популяцию клеток, истощенных в процессе уничтожения раковых клеток. Рак может представлять собой гемобластоз, такой как острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома или неходжкинская

лимфома.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов способ используют для лечения аутоиммунного заболевания, например, путем введения антител, их антигенсвязывающих фрагментов или ADC для истощения популяции аутоиммунных клеток CD117+, и/или путем введения антител или их антигенсвязывающих фрагментов или ADC для истощения популяции эндогенных гемопоэтических стволовых клеток перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. В последнем случае трансплантация может, в свою очередь, восстанавливать, например, популяцию клеток, истощенных в процессе уничтожения аутоиммунных клеток. Аутоиммунным заболеванием может быть, например, склеродермия, рассеянный склероз (MS), системная красная волчанка (SLE), ревматоидный артрит (RA), воспалительное заболевание кишечника (IBD), псориаз, сахарный диабет 1 типа (диабет 1 типа), острый рассеянный энцефаломиелит (ADEM), болезнь Аддисона, универсальная алопеция, анкилозирующий спондилит, синдром антифосфолипидных антител (APS), апластическая анемия, аутоиммунная гемолитическая анемия, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (ALPS), аутоиммунный оофорит, болезнь Бало, болезнь Бехчета, буллезный пемфигоид, кардиомиопатия, болезнь Шагаса, синдром хронической усталости и иммунной дисфункции (CFIDS), хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезнь Крона, рубцовый пемфигоид, герпетиформный дерматит, ассоциированный с глютенной энтеропатией, холодовая агглютининовая болезнь, CREST-синдром, синдром Дегоса, дискоидная волчанка, вегето-сосудистая дистония, эндометриоз, первичная криоглобулинемия смешанного типа, фибромиалгия-фибромиозит, синдром Гудпасчера, заболевание Грейвса, синдром Гийена-Барре (GBS), тиреоидит Хашимото, гнойный гидраденит, идиопатическая и/или острая тромбоцитопеническая пурпура, идиопатический легочный фиброз, IgA-нефропатия, интерстициальный цистит, ювенильный артрит, синдром Кавасаки, красный плоский лишай, болезнь Лайма, болезнь Менъера, смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), миастения гравис, нейромиотония, опсо-миоклональный синдром (OMS), неврит зрительного нерва, атрофический аутоиммунный тиреоидит, обыкновенная пузырчатка, пернициозная анемия, полихондрия, полимиозит и дерматомиозит, первичный билиарный цирроз, узелковый полиартериит, полигландулярные синдромы, ревматическая полимиалгия, первичная агаммаглобулинемия, феномен Рейно, синдром Рейтера, ревматическая лихорадка, саркоидоз, склеродермия, синдром Шегрена, синдром мышечной скованности, синдром Такаясу, височный артериит (также известный как «гигантоклеточный артериит»), язвенный колит, увеит, васкулит, витилиго, вульводиния («вульварный вестибулит») и гранулематоз Вегенера.

В связи с этим в некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов изобретение относится к способу лечения гемоглобинопатии, такой как серповидноклеточная анемия, талассемия, анемия Фанкони, апластическая анемия и синдром Вискотта-Олдрича. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится

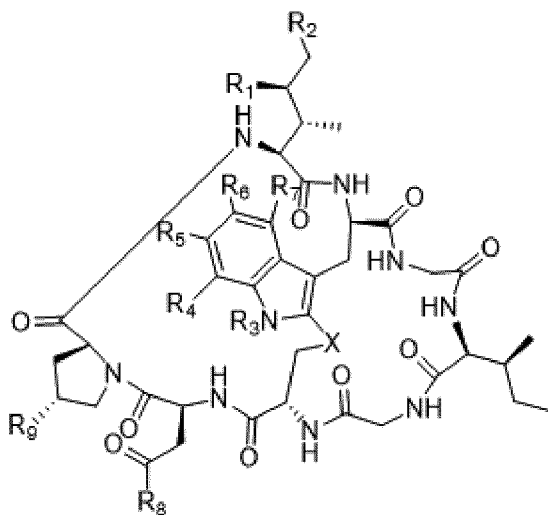
к способу лечения иммунодефицитного состояния, такого как врожденное иммунодефицитное состояние или приобретенное иммунодефицитное состояние (например, вирус иммунодефицита человека или синдром приобретенного иммунодефицита). В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения нарушений обмена веществ, таких как болезни накопления гликогена, мукополисахаридозы, болезнь Гоше, болезнь Гурлера, сфинголипидоз и метахроматическая лейкодистрофия. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения заболевания, выбираемого из группы, состоящей из аденозиндезаминазной недостаточности и тяжелого комбинированного иммунодефицита, синдрома гипериммуноглобулина М, болезни Чедиака-Хигаши, наследственного лимфогистиоцитоза, остеопетроза, незавершенного остеогенеза, болезней накопления, большой талассемии, системного склероза, системной красной волчанки и ювенильного ревматоидного артрита. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения аутоиммунного заболевания, такого как склеродермия, рассеянный склероз, язвенный колит, болезнь Крона и диабет 1 типа. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения рака или миелопролиферативного заболевания, такого как гемобластоз. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения острой миелоидной лейкемии, острого лимфоидного лейкоза, хронической миелоидной лейкемии, хронического лимфоидного лейкоза, множественной миеломы, диффузной В-крупноклеточной лимфомы или неходжкинской лимфомы. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется миелодиспластическое заболевание, такое как миелодиспластический синдром. В этих вариантах осуществления способ может включать этапы введения антител или их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117) и/или трансплантата гемопоэтических стволовых клеток в соответствии со способом согласно любому из описанных выше аспектов и вариантов осуществления изобретения.

Аналогичным образом, в некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов в изобретении представлен способ непосредственного лечения рака, такого как рак, характеризующийся клетками CD117+ (например, лейкоз, характеризующийся клетками CD117+). В этих вариантах осуществления способ включает введение антител, их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117). Рак может представлять собой гемобластоз, такой как острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома или неходжкинская лимфома.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления любого из представленных выше аспектов в изобретении представлен способ лечения аутоиммунного заболевания, такого как рассеянный склероз (MS), системная красная волчанка (SLE), ревматоидный артрит (RA), воспалительное заболевание кишечника (IBD), псориаз, сахарный диабет 1 типа (диабет 1 типа) острый рассеянный энцефаломиелит (ADEM), болезнь Аддисона,

универсальная алопеция, анкилозирующий спондилит, синдром антифосфолипидных антител (APS), апластическая анемия, аутоиммунная гемолитическая анемия, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (ALPS), аутоиммунный оофорит, болезнь Бало, болезнь Бехчета, буллезный пемфигоид, кардиомиопатия, болезнь Шагаса, синдром хронической усталости и иммунной дисфункции (CFIDS), хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезнь Крона, рубцовый пемфигоид, герпетиформный дерматит, ассоциированный с глютенной энтеропатией, холодовая агглютининовая болезнь, CREST-синдром, синдром Дегоса, дискоидная волчанка, вегетососудистая дистония, эндометриоз, первичная криоглобулинемия смешанного типа, фибромиалгия-фибромиозит, синдром Гудпасчера, заболевание Грейвса, синдром Гийена-Барре (GBS), тиреоидит Хашимото, гнойный гидраденит, идиопатическая и/или острая тромбоцитопеническая пурпура, идиопатический легочный фиброз, IgA-нефропатия, интерстициальный цистит, ювенильный артрит, синдром Кавасаки, красный плоский лишай, болезнь Лайма, болезнь Меньера, смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), миастения гравис, нейромиотония, опсо-миоклональный синдром (OMS), неврит зрительного нерва, атрофический аутоиммунный тиреоидит, обыкновенная пузырчатка, пернициозная анемия, полихондрия, полимиозит и дерматомиозит, первичный билиарный цирроз, узелковый полиартериит, полигландулярные синдромы, ревматическая полимиалгия, первичная агаммаглобулинемия, феномен Рейно, синдром Рейтера, ревматическая лихорадка, саркоидоз, склеродермия, синдром Шегрена, синдром мышечной скованности, синдром Такаясу, височный артериит (также известный как «гигантоклеточный артериит»), язвенный колит, увеит, васкулит, витилиго, вульводиния («вульварный вестибулит») и гранулематоз Вегенера. В этих вариантах осуществления способ включает введение антител или их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117).

В другом аспекте изобретение относится к способу истощения популяции клеток CD117+ (например, GNNK+ CD117+) путем введения популяции в контакт с эффективным количеством конъюгата (или ADC), представленного формулой Ab-Z-L-Am, в которой Ab представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают CD117, Z представляет химический фрагмент, L представляет линкер, а Am представляет аматоксин. Am-L-Z может быть представлен формулой (IA)



(IA)

где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 и R_7 каждый независимо представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

R_C представляет -L-Z;

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

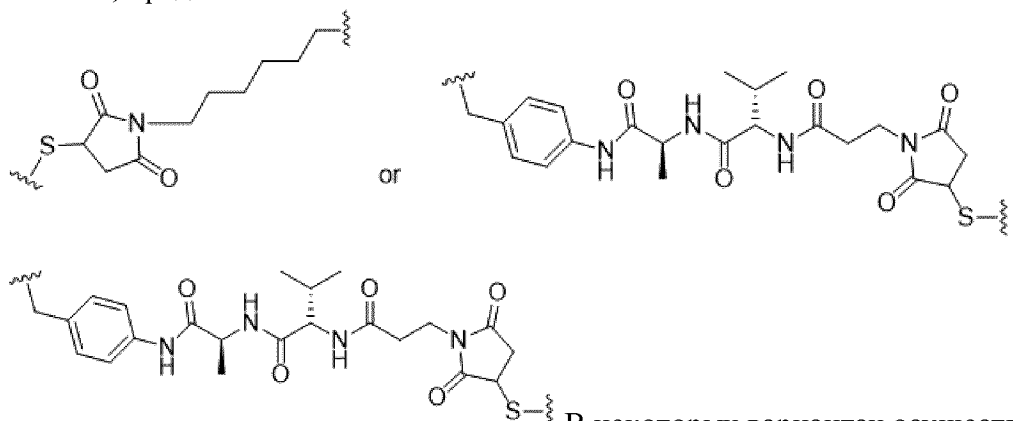
L представляет линкер, такой как необязательно замещенный алкилен (например, C₁-C₆ алкилен), необязательно замещенный гетероалкилен (C₁-C₆ гетероалкилен), необязательно замещенный алкенилен (например, C₂-C₆ алкенилен), необязательно замещенный гетероалкенилен (например, C₂-C₆ гетероалкенилен), необязательно замещенный алкинилен (например, C₂-C₆ алкинилен), необязательно замещенный гетероалкинилен (например, C₂-C₆ гетероалкинилен), необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, -(C=O)-, пептид или их комбинацию; а

Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его

антигенсвязывающего фрагмента,

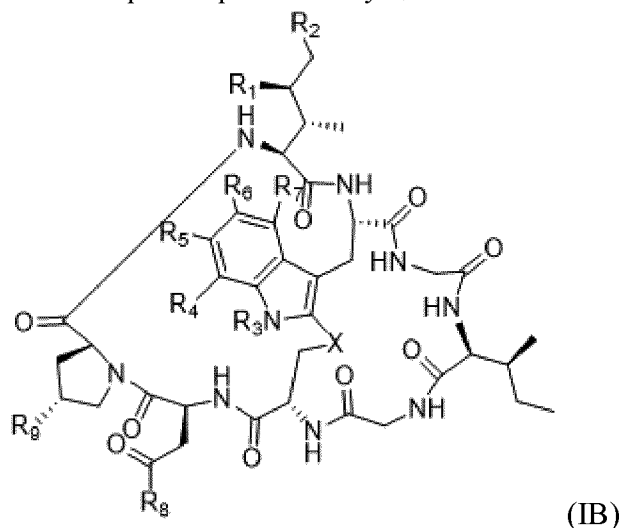
где Am содержит ровно один R_C заместитель.

В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IB)



(IB)

где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

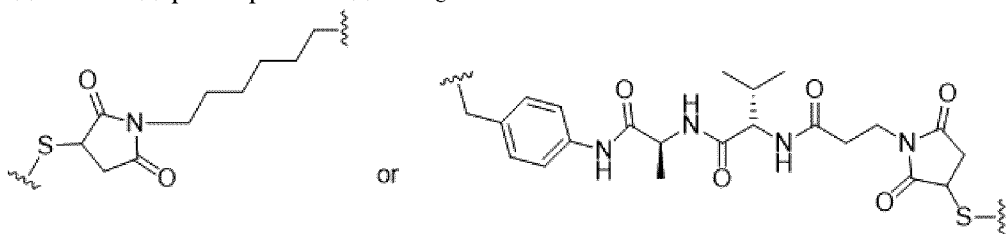
X представляет $-S-$, $-S(O)-$ или $-SO_2-$;

R_C представляет -L-Z;

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C_1 - C_6 алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C_1 - C_6 гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C_2 - C_6 алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C_2 - C_6 гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C_2 - C_6 алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C_2 - C_6 гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

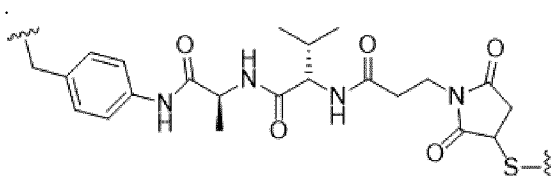
L представляет линкер, такой как необязательно замещенный алкилен (например, C_1 - C_6 алкилен), необязательно замещенный гетероалкилен (C_1 - C_6 гетероалкилен), необязательно замещенный алкенилен (например, C_2 - C_6 алкенилен), необязательно замещенный гетероалкенилен (например, C_2 - C_6 гетероалкенилен), необязательно замещенный алкинилен (например, C_2 - C_6 алкинилен), необязательно замещенный гетероалкинилен (например, C_2 - C_6 гетероалкинилен), необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, $-(C=O)-$, пептид или их комбинацию;

Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117); и где Am содержит ровно один R_C заместитель.



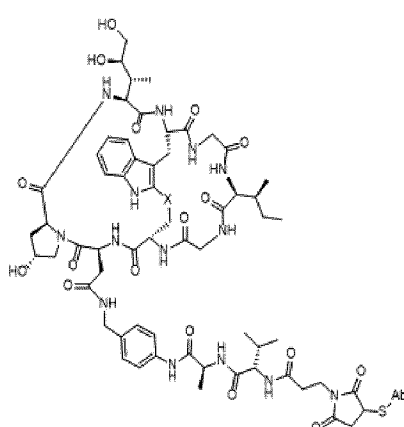
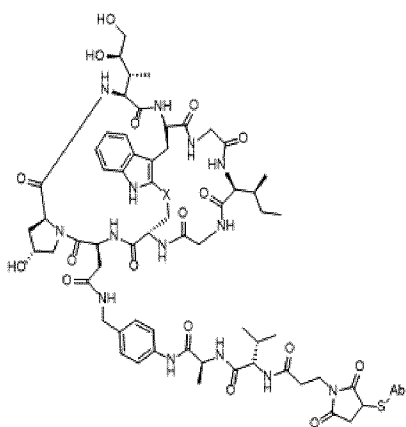
B

некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



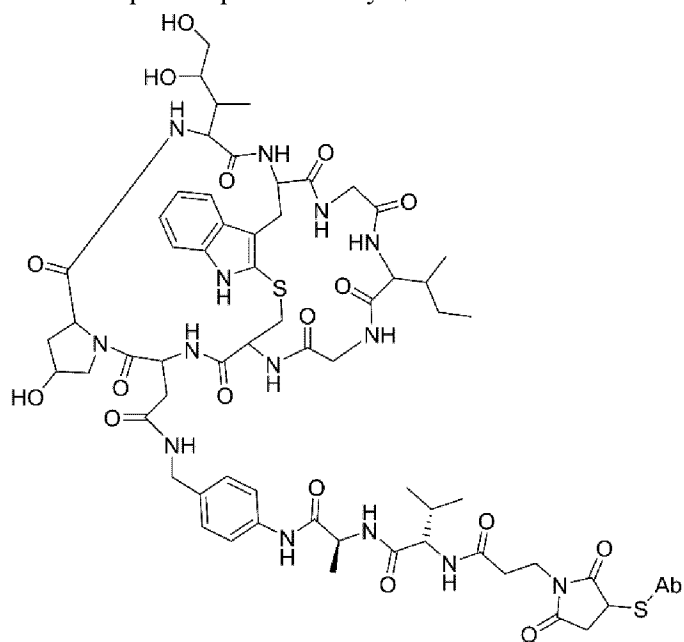
В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab выбран из



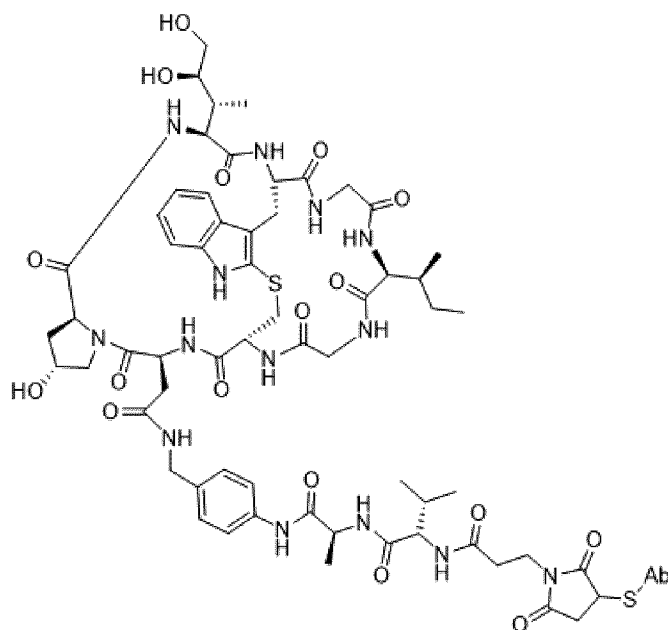
где X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет



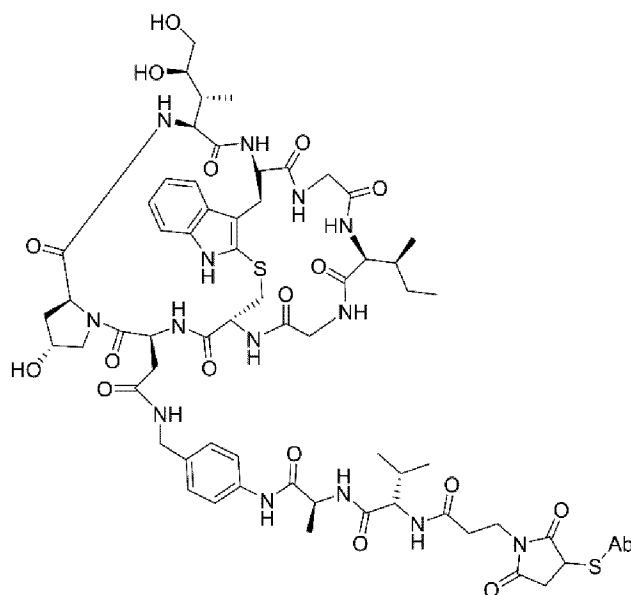
В некоторых вариантах

осуществления Am-L-Z-Ab представляет



В некоторых вариантах

осуществления Am-L-Z-Ab представляет



В другом аспекте изобретение

относится к конъюгату, представленному формулой Ab-Z-L-Am, в которой Ab представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117), а Am представляет аматоксин. В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (I), (IA), (IB), (II), (IIA), (IIB), (IV), (IVA) или (IVB), выше.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгирован с аматоксином посредством цистеинового остатка в Fc домене антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления остаток цистеина вводят посредством мутации в Fc домене антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Например, остаток цистеина может быть выбран из группы, состоящей из Cys118, Cys239 и Cys265.

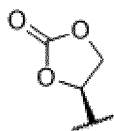
В некоторых вариантах осуществления этих аспектов остаток цистеина в природе

находится в Fc домене антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Например, Fc доменом может быть IgG Fc домен, такой как человеческий IgG1 Fc домен, а остаток цистеина может быть выбран из группы, состоящей из Cys261, Cys321, Cys367 и Cys425.

В некоторых вариантах осуществления этих аспектов R_1 представляет H, OH или OR_A ;

R_2 представляет H, OH или OR_B ;

R_A и R_B , вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:



R_3 , R_4 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_5 представляет OR_C ;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH; а

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-. В некоторых вариантах осуществления R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 представляет R_C ;

R_4 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_5 представляет H, OH или OC_1-C_6 алкил;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH; а

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-. В некоторых вариантах осуществления R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_4 представляет OR_C или R_C ;

R_5 представляет H, OH или OC_1-C_6 алкил;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH; а

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-. В некоторых вариантах осуществления R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_4 и R_5 каждый независимо представляет H или OH;

R_8 представляет OR_C или NHR_C ;

R_9 представляет H или OH; а

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-. В некоторых вариантах осуществления этих аспектов антитело или его антигенсвязывающий фрагмент интернализируется клеткой CD117+.

В некоторых вариантах осуществления этих аспектов антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CD117 с K_d менее чем 1 мкМ, менее чем 750 нМ,

менее чем 500 нМ, менее чем 250 нМ, менее чем 200 нМ, менее чем 150 нМ, менее чем 100 нМ, менее чем 75 нМ, менее чем 50 нМ, менее чем 10 нМ, менее чем 1 нМ, менее чем 0,1 нМ, менее чем 10 пМ, менее чем 1 пМ или менее чем 0,1 пМ. В некоторых вариантах осуществления K_d составляет от приблизительно 0,1 пМ до приблизительно 1 мкМ.

В некоторых вариантах осуществления этих аспектов антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CD117 с k_{on} от приблизительно $9 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ до приблизительно $1 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

В некоторых вариантах осуществления этих аспектов антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конкурентно ингибирует связывание CD117 со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или связывает его эпитоп в качестве второго антитела, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет следующие определяющие комплементарность области (CDR):

CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SYWIG (SEQ ID NO:1);

CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность IIYPGDS DTRYSPSFQG (SEQ ID NO:2);

CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность HGRGYNGYEGAFDI (SEQ ID NO:3);

CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность RASQGISSALA (SEQ ID NO:4);

CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность DASSLES (SEQ ID NO:5);

и

CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность CQQFNSYPLT (SEQ ID NO:6).

В раскрытии дополнительно представлены выделенные антитела против CD117, которые можно использовать в конъюгатах антитело-лекарственное средство (ADC), раскрытых в данном документе, содержащие CDR и переменные области тяжелой и легкой цепей, описанные в таблице 1, таблице 6 или таблице 8.

В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит

[illegible]

[illegible]

[illegible]

вариабельную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:159, и вариабельную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:156. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:160, и вариабельную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:152. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, и вариабельную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:99. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и вариабельную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:99. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и вариабельную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:100. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, и вариабельную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:101. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, и вариабельную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:102.

В некоторых вариантах осуществления этих аспектов антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбран из группы, состоящей из моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, поликлонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, гуманизированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, двойного вариабельного домена иммуноглобулина, одноцепочечной Fv-молекулы (scFv), диатела, триатела, нанотела, антителоподобного белкового каркаса, фрагмента Fv, фрагмента Fab, молекулы F(ab')₂ и tandemного di-scFV. В одном варианте осуществления антителом является интактное антитело.

В другом аспекте изобретение относится к конъюгату (ADC), представленному формулой Ab-Z-L-Cy, в которой Ab представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают CD117 (например, G2NK+ CD117), а Cy представляет цитотоксин. В некоторых вариантах осуществления этого аспекта цитотоксином является

экзотоксин А синегнойной палочки, дебуганин, дифтерийный токсин, сапорин, майтансин, майтанзиноид, ауристатин, антрациклин, калихимидин, иринотекан, SN-38, дуокармицин, пирролбензодиазепин, димер пирролбензодиазепаина, индолинбензодиазепин или димер индолинбензодиазепаина или вариант любого из вышеупомянутых цитотоксинов.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта антитело, его антигенсвязывающий фрагмент или ADC интернализируется клеткой CD117+.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта антитело, его антигенсвязывающий фрагмент или ADC связывает CD117 с K_d менее чем 1 мкМ, менее чем 750 нМ, менее чем 500 нМ, менее чем 250 нМ, менее чем 200 нМ, менее чем 150 нМ, менее чем 100 нМ, менее чем 75 нМ, менее чем 50 нМ, менее чем 10 нМ, менее чем 1 нМ, менее чем 0,1 нМ, менее чем 10 пМ, менее чем 1 пМ или менее чем 0,1 пМ при измерении с помощью биослойной интерферометрии (BLI). В некоторых вариантах осуществления K_d составляет от приблизительно 0,1 пМ до приблизительно 1 мкМ.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта антитело, его антигенсвязывающий фрагмент или ADC связывает CD117 с k_{on} от приблизительно $9 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ до приблизительно $1 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ при измерении с помощью анализа биослойной интерферометрии (BLI).

В некоторых вариантах осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент имеет определенную скорость диссоциации, которая является особенно предпочтительной при использовании в качестве части конъюгата. Например, антитело против CD117 в некоторых вариантах осуществления имеет константу скорости диссоциации (K_{dis}) для человеческого CD117 от 1×10^{-2} до 1×10^{-7} , от 1×10^{-3} до 1×10^{-7} , от 1×10^{-4} до 1×10^{-7} , от 1×10^{-5} до 1×10^{-7} или от 1×10^{-6} до $1 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ при измерении с помощью биослойной интерферометрии (BLI).

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта антитело, его антигенсвязывающий фрагмент или ADC конкурентно ингибирует связывание CD117 со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет следующие CDR:

- a. CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SYWIG (SEQ ID NO:1);
- b. CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность ПYPGDS DTRYSPSFQG (SEQ ID NO:2);
- c. CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность HGRGYNGYEGAFDI (SEQ ID NO:3);
- d. CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность RASQGISSALA (SEQ ID NO:4);
- e. CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность DASSLES (SEQ ID NO:5); и
- f. CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность CQQFNSYPLT (SEQ ID NO:6).

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта антитело или его

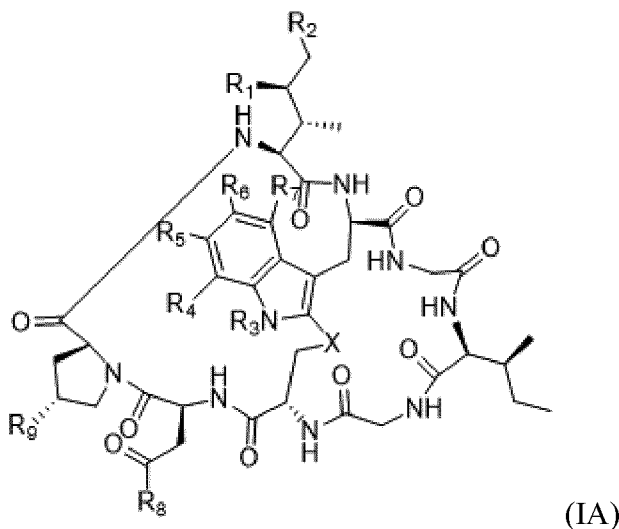
антигенсвязывающий фрагмент выбран из группы, состоящей из моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, поликлонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, гуманизированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, двойного переменного домена иммуноглобулина, одноцепочечной Fv-молекулы (scFv), диатела, триатела, нанотела, антителоподобного белкового каркаса, фрагмента Fv, фрагмента Fab, молекулы F(ab')₂ и tandemного di-scFv. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет изотип, выбираемый из группы, состоящей из IgG, IgA, IgM, IgD и IgE.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые способы и композиции содержат выделенные антитела против CD117 или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие CDR, представленные в аминокислотных последовательностях тяжелой и легкой цепей, представленных в таблице 1, таблице 6 или таблице 8. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые способы и композиции содержат антитела против CD117 или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие переменные области, представленные в аминокислотных последовательностях тяжелой и легкой цепей, представленных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые способы и композиции содержат IgG1 антитела против CD117 или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие переменные области, представленные в аминокислотных последовательностях тяжелой и легкой цепей, представленных в таблице 1, таблице 6 или таблице 8.

В другом аспекте изобретение относится к способу лечения острой миелоидной лейкемии (AML) у пациента-человека, где способ включает введение эффективного количества ADC против CD117 пациенту-человеку таким образом, чтобы вылечить AML, где ADC против CD117 содержит антитело против CD117, конъюгированное с цитотоксином. В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является ингибитор РНК-полимеразы. В другом варианте осуществления ингибитором РНК-полимеразы является аматоксин. В других вариантах осуществления антитело против CD117 содержит последовательности CDR, представленные в аминокислотных последовательностях тяжелой и легкой цепей таблицы 1. В других вариантах осуществления антителом против CD117 является интактное антитело. В другом варианте осуществления антителом является IgG1 или IgG4.

В другом аспекте в изобретении представлен конъюгат, представленный формулой Ab-Z-L-Am, в которой Ab представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают CD117, L представляет линкер, Z представляет химический фрагмент, а Am представляет аматоксин, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR, представленные в аминокислотных последовательностях тяжелой и легкой цепей таблицы 1, таблицы 6 или таблицы 8.

В некоторых вариантах осуществления участок линкер-химический фрагмент-аматоксин (Am-L-Z) конъюгата представлен формулой (IA)



где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 и R_7 каждый независимо представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

R_C представляет -L-Z;

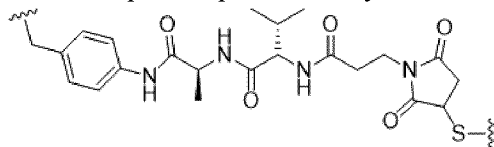
R_D представляет необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, необязательно замещенный C_1 - C_6 гетероалкил, необязательно замещенный C_2 - C_6 алкенил, необязательно замещенный C_2 - C_6 гетероалкенил, необязательно замещенный C_2 - C_6 алкинил, необязательно замещенный C_2 - C_6 гетероалкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет необязательно замещенный C_1 - C_6 алкилен, необязательно замещенный C_1 - C_6 гетероалкилен, необязательно замещенный C_2 - C_6 алкенилен, необязательно замещенный C_2 - C_6 гетероалкенилен, необязательно замещенный C_2 - C_6 алкинилен, необязательно замещенный C_2 - C_6 гетероалкинилен, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, -(C=O)-, пептид или их комбинацию; а

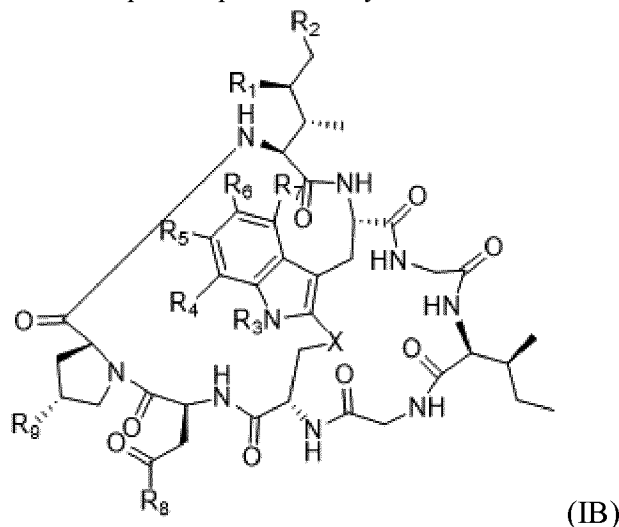
Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента,

при этом Am содержит ровно один R_C заместитель.

В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет



В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IB)



где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 и R_7 каждый независимо представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

R_C представляет -L-Z;

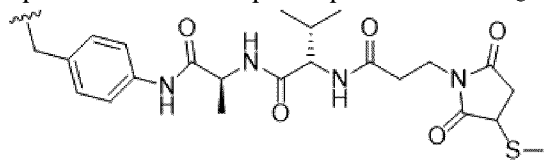
R_D представляет необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₁-C₆ гетероалкил, необязательно замещенный C₂-C₆ алкенил, необязательно замещенный C₂-C₆ гетероалкенил, необязательно замещенный C₂-C₆ алкинил, необязательно замещенный C₂-C₆ гетероалкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет необязательно замещенный C₁-C₆ алкилен, необязательно замещенный C₁-C₆ гетероалкилен, необязательно замещенный C₂-C₆ алкенилен, необязательно замещенный C₂-C₆ гетероалкенилен, необязательно замещенный C₂-C₆ алкинилен, необязательно замещенный C₂-C₆ гетероалкинилен, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, -(C=O)-, пептид

или их комбинацию; а

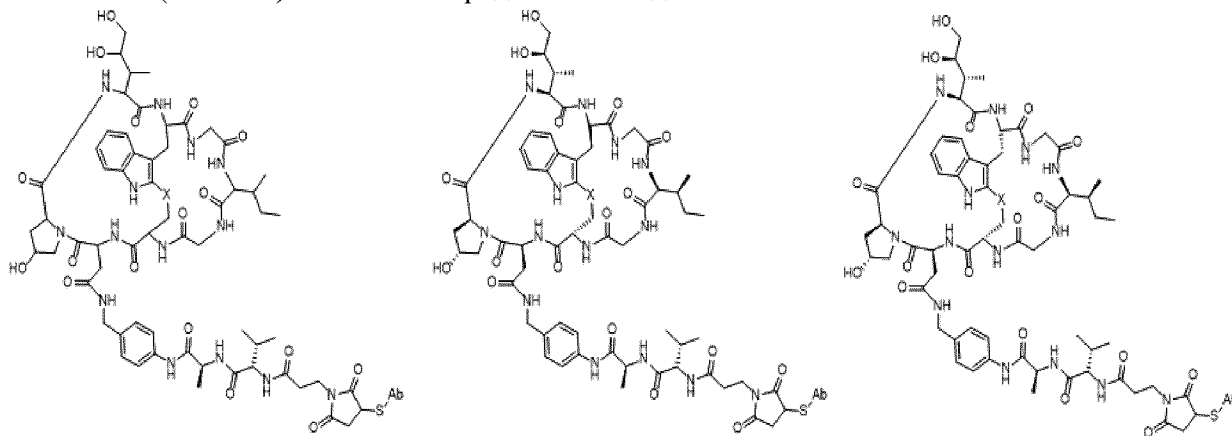
Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента,

при этом Am содержит ровно один R_C заместитель.

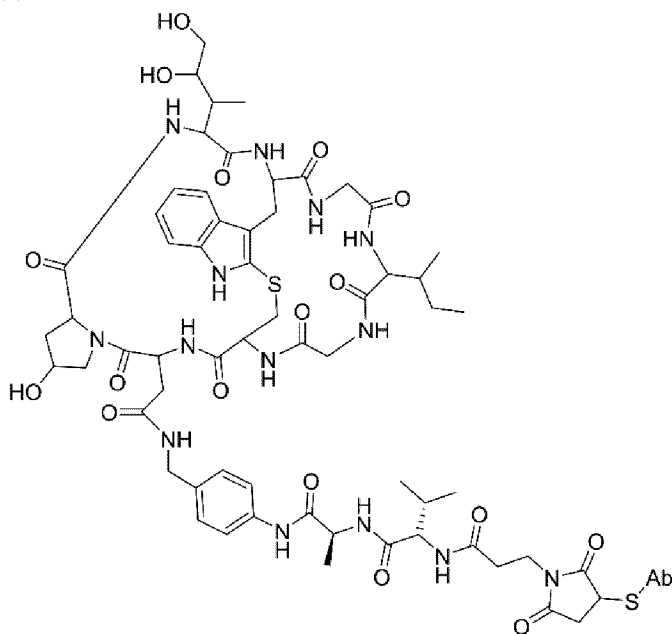


В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

В некоторых вариантах осуществления участок линкер-химический фрагмент-аматоксин (Am-L-Z) конъюгата представляет одно из:



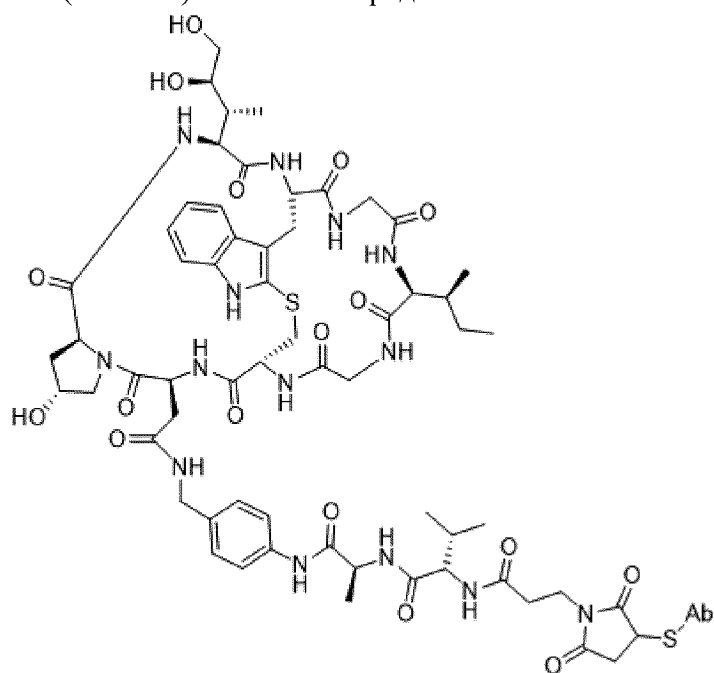
где X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-, а Ab представлен для обозначения места присоединения антитела.



В некоторых вариантах осуществления участок линкер-химический фрагмент-аматоксин (Am-L-Z) конъюгата представляет

где Ab представлен для обозначения места присоединения антитела.

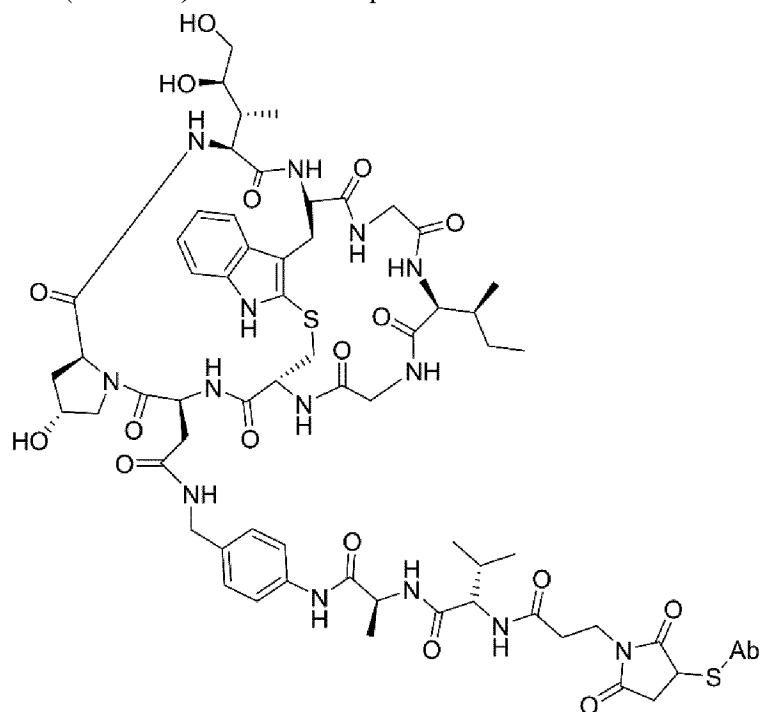
В некоторых вариантах осуществления участок линкер-химический фрагмент-аматоксин (Am-L-Z) конъюгата представляет



где Ab представлен для

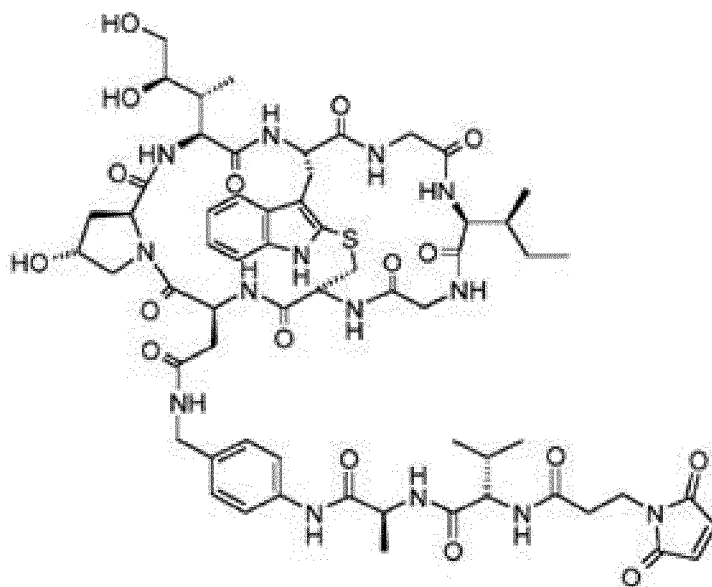
обозначения места присоединения антитела.

В некоторых вариантах осуществления участок линкер-химический фрагмент-аматоксин (Am-L-Z) конъюгата представляет



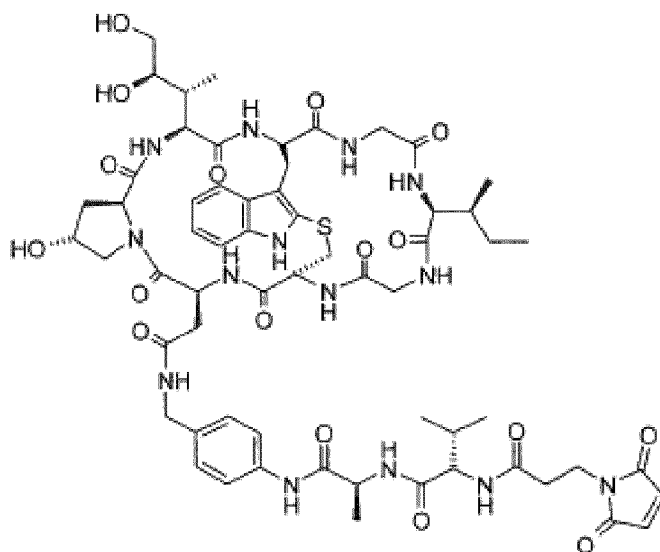
где Ab представлен для обозначения места присоединения антитела.

В некоторых вариантах осуществления предшественник Am-L-Z представляет



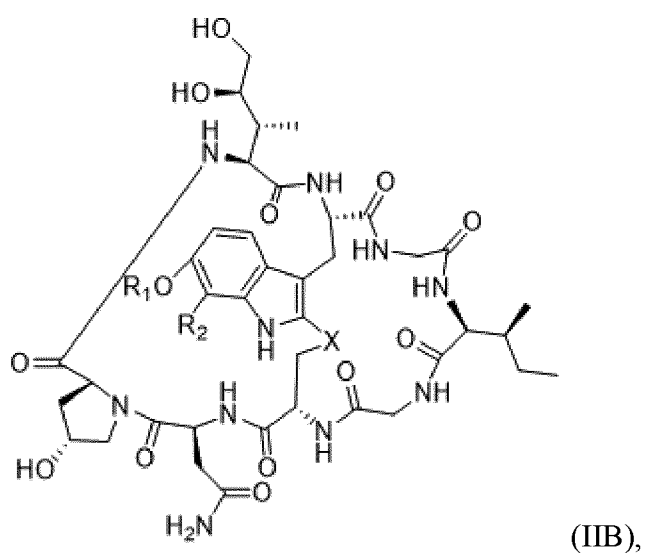
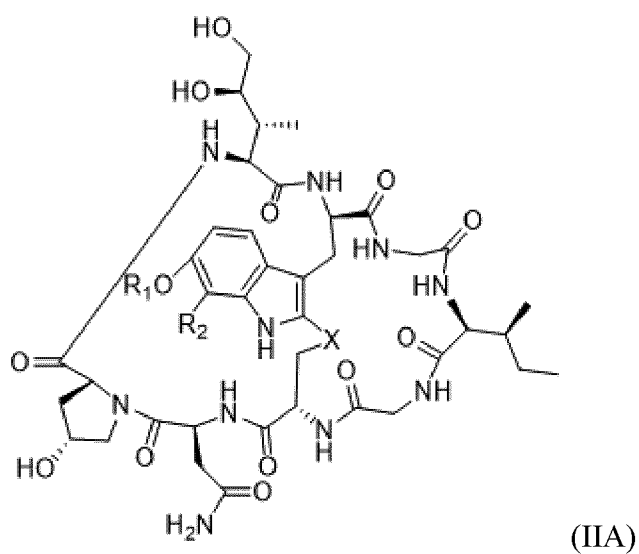
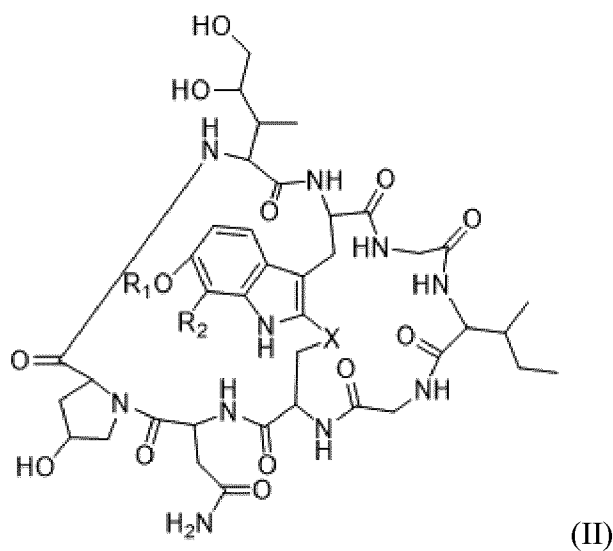
при этом малеимид вступает в реакцию с тиольной группой, находящейся на цистеине в антителе.

В некоторых вариантах осуществления предшественник Am-L-Z представляет



при этом малеимид вступает в реакцию с тиольной группой, находящейся на цистеине в антителе.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (II), формулой (IIA) или формулой (IIB)



где X представляет S, SO или SO₂;

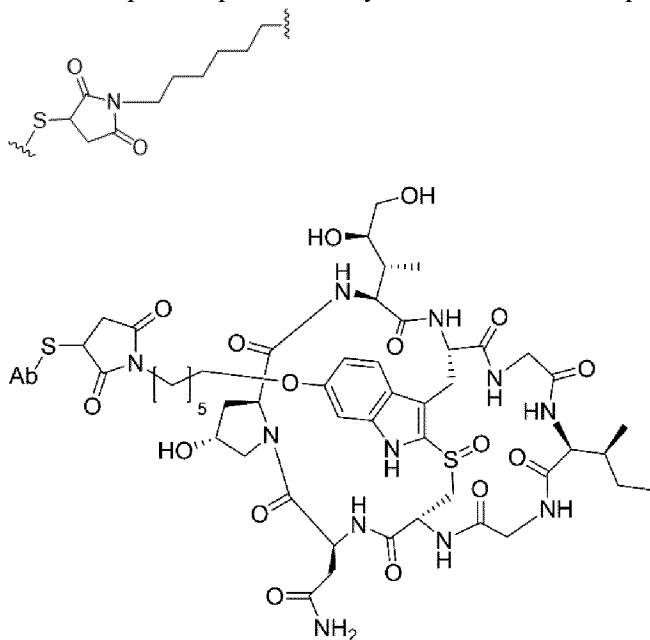
R₁ представляет H или линкер, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его

антигенсвязывающего фрагмента; а

R_2 представляет Н или линкер, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента;

где, когда R_1 представляет Н, R_2 представляет линкер, а когда R_2 представляет Н, R_1 представляет линкер.

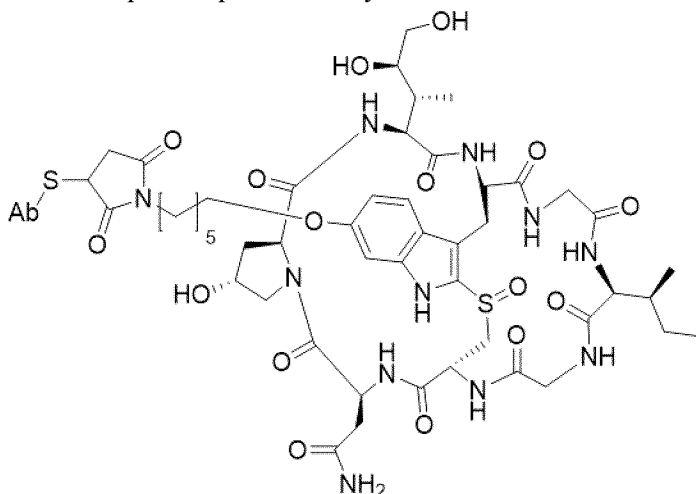
В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет



В некоторых вариантах

осуществления Ab-Z-L-Am представляет

В некоторых вариантах осуществления Ab-Z-L-Am представляет



Краткое Описание Чертежей

На Фиг. 1 представлено измерение с помощью биослойной интерферометрии (BLI) связывания указанного очищенного IgG (связанного с сенсором) с очищенным человеческим эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR) в концентрациях 33,3 нМ

(верхние следы) и 11 нМ (нижние следы) в виде функции времени. Очищенные IgG соответствуют Ab1 (то есть 001), Ab2 (то есть 002), Ab3 (то есть 003), Ab4 (то есть 004), Ab5 (то есть 005), Ab6 (то есть 006), Ab7 (то есть 007), Ab8 (то есть 008), Ab9 (то есть 009), Ab10 (то есть 010), Ab11 (то есть 011), Ab12 (то есть 012), Ab13 (то есть 013), Ab14 (то есть 014), Ab15 (то есть 015) и Ab16 (то есть 016).

На фиг. 2А и 2В графически представлены результаты анализов гибели клеток *in vitro*, которые демонстрируют жизнеспособность клеток Kasumi-1 при измерении с использованием люминесценции (RLU) с помощью Celltiter Glo (Фиг. 2А), или подсчета жизнеспособных клеток CD34⁺ CD90⁺ (Фиг. 2В) в присутствии CD117-ADC или контроля (ось y) в качестве функции концентрации CD117-ADC или контроля (ось x).

На фиг. 3А, 3В, 3С и 3D графически представлены результаты анализа истощения клеток *in vivo*, который демонстрирует, что CD117-ADC избирательно истощает человеческие HSC у гуманизированных мышей NSG. (А) Схематичное изображение мышинной модели *in vivo*. (В) Показана доля человеческих миелоидных клеток или (С) доля Т-клеток, имеющих в периферической крови получавших лечение CD117-ADC или контроль мышей, выраженные в виде процентного значения этой популяции клеток перед лечением (нормировано по исходному уровню). (D) Показано абсолютное количество клеток CD34⁺ в костном мозге получавших лечение CD117-ADC или контроль мышей через 21 день после разового введения ADC.

На фиг. 4А, 4В, 4С и 4D графически представлены результаты исследования опухоли *in vivo*, которые демонстрируют, что CD117-ADC эффективно истощает человеческие лейкозные клетки у мышей NSG. (А) Фенотипический анализ клеток Kasumi-1 в культуре. (В) Фенотипический анализ клеток Kasumi-1 из костного мозга мышей-опухоленосителей во время эвтаназии. (С) Кривая выживаемости мышей, получавших лечение 7 дней после инъекции опухоли, либо в виде CD117-ADC, либо в виде только антител против CD117, либо в группе не получавшего лечения контроля. (D) Кривая выживаемости мышей, получавших лечение 42 дня после инъекции опухоли, либо в виде CD117-ADC, либо в виде только антител против CD117, либо в группе не получавшего лечения контроля.

На фиг. 5А, 5В и 5С графически представлены результаты анализа истощения клеток *in vivo*, который демонстрирует, что CD117-ADC избирательно истощает HSC у мышей B6. (А) Схематичное изображение анализа истощения *in vivo* в модели мышей B6. (В) Показаны результаты анализа истощения мышинных HSC после введения разовой дозы ADC против CD117 (то есть «CD117-Сапорин») по сравнению с контролем (то есть «контроль» и «изотип-Сапорин»), выраженные в виде количества клеток kit⁺SCA⁺CD150⁺CD48 (ось y) в качестве функции разовой инъекции ADC против CD117 (то есть «CD117-Сапорин») или контроля (ось x). (С) Показаны результаты анализа приживления, выраженные в виде процентного значения донорского химеризма (ось y) в качестве функции режима лечения (то есть «контроль», «изотип-Сапорин» и «CD117-Сапорин»).

На фиг. 6 графически представлены результаты фармакокинетического анализа не являющегося человеком примата, выраженные в виде концентрации (нг/мл) изотипических

контрольных антител (то есть «антител дикого типа») по сравнению с вариантными антителами СК6 с более коротким временем полураспада в качестве функции времени (то есть часов после введения; ось x).

На фиг. 7A и 7B графически представлены результаты анализа истощения *in vivo*, демонстрирующие, что CD117-ADC эффективно истощает человеческие клетки CD34⁺ у гуманизированных мышей NSG. (A) Фенотипический анализ человеческих клеток в костном мозге NSG на 21 день при лечении разовой дозой (i) ADC против CD117 дикого типа, (ii) вариантного ADC СК6 против CD117 с более коротким временем полураспада или (iii) контроля. (B) Показаны результаты анализа истощения гуманизированных мышей NSG после введения разовой дозы ADC против CD117 дикого типа (мг/кг) по сравнению с вариантным ADC СК6 против CD117 с более коротким временем полураспада (мг/кг) и разными контролями (то есть «контроль», «изотип-ADC (1 мг/кг)» и «антитела против CD117 (1 мг/кг)»), выраженные в виде количества клеток CD34⁺ на бедро (ось y) в качестве функции разовой инъекции (i) ADC против CD117 дикого типа, (ii) вариантных ADC против CD117 с «коротким временем полураспада» или (iii) контроля (ось x).

На фиг. 8A, 8B и 8C графически представлены результаты анализа истощения *in vivo*, демонстрирующие, что человеческие периферические лимфоциты сохраняются через 21 день после введения разовой дозы ADC против CD117 в модели гуманизированных мышей. (A) Показано процентное значение человеческих клеток CD33⁺ (относительно исходного уровня), сохранившихся через 21 день у мышей, получавших лечение разными концентрациями разовой дозы (i) ADC против CD117 дикого типа (мг/кг), (ii) вариантного ADC СК6 против CD117 с более коротким временем полураспада (мг/кг) или (iii) разных контролей (то есть «контроль», «изотип-ADC (1 мг/кг)» и «антитела против CD117 (1 мг/кг)»). (B) Показано процентное значение человеческих клеток CD3⁺ (относительно исходного уровня), сохранившихся через 21 день у мышей, получавших лечение разными концентрациями разовой дозы (i) ADC против CD117 дикого типа (мг/кг), (ii) вариантного ADC СК6 против CD117 с более коротким временем полураспада (мг/кг) или (iii) разных контролей (то есть «контроль», «изотип-ADC (1 мг/кг)» и «антитела против CD117 (1 мг/кг)»). (C) Показано процентное значение человеческих клеток CD19⁺ (относительно исходного уровня), сохранившихся через 21 день у мышей, получавших лечение разными концентрациями разовой дозы (i) ADC против CD117 дикого типа (мг/кг), (ii) вариантного ADC СК6 против CD117 с более коротким временем полураспада (мг/кг) или (iii) разных контролей (то есть «контроль», «изотип-ADC (1 мг/кг)» и «антитела против CD117 (1 мг/кг)»).

На фиг. 9A, 9B, 9C и 9D описано измерение связывания антител против CD117 с помощью биослойной интерферометрии (BLI) указанного очищенного IgG (связанного с сенсором) с очищенным человеческим эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR) в концентрациях 33,3 нМ (верхний след) и 11 нМ (нижний след) в виде функции времени для (A) антител HC-1/LC-1 (Ab1), (B) антител HC-77/LC-77 (Ab 77), (C) антител HC-79/LC-79 (Ab79) и (D) антител HC-81/LC-81 (Ab81).

На фиг. 10А и 10В представлено измерение с помощью биослойной интерферометрии (BLI) связывания указанного очищенного IgG (связанного с сенсором) с очищенным человеческим эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR) в концентрациях 33,3 нМ (верхние следы) и 11 нМ (нижние следы) в виде функции времени для (А) антител HC-85/LC-85 и (В) антител HC-1/LC-1.

На фиг. 11А, 11В, 11С и 11D представлены вариabельная область тяжелой (VH) и вариabельная область легкой (VL) цепей аминокислотных последовательностей СК6, Ab85 и Ab249. (А) Показано выравнивание вариabельных областей тяжелой (VH) цепи СК6 (SEQ ID NO:161) и Ab85 (SEQ ID NO:143). (В) Показано выравнивание вариabельных областей легкой (VL) цепи СК6 (SEQ ID NO:162) и Ab85 (SEQ ID NO:144). (С) Показано выравнивание вариabельных областей тяжелой (VH) цепи СК6 (SEQ ID NO:161) и Ab249 (SEQ ID NO:98). (D) Показано выравнивание вариabельных областей легкой (VL) цепи СК6 (SEQ ID NO:162) и Ab249 (SEQ ID NO:102).

На фиг. 12А, 12В и 12С представлено связывание с помощью биослойной интерферометрии (BLI) указанного очищенного IgG (связанного с сенсором) с очищенным человеческим эктодоменом CD117 при 11 нМ (нижний след) и 33 нМ (верхний след) в виде функции времени для (А) антител СК6, (В) антител HC-85/LC-85 (Ab85) и (С) антител HC-249/LC-249 (Ab 249).

На фиг. 13А и 13В показана доля кислых вариантов, имеющихся в указанных антителах в указанных условиях инкубации (ось x) на (А) 7 день (25°C и 50°C) и (В) 15 день (25°C и 50°C) по сравнению с T_0 при определении с помощью капиллярного электрофореза.

На фиг. 14А, 14В, 14С, 14D и 14Е представлены хроматограммы, демонстрирующие профиль элюции (А) антител СК6, (В) антител HC-77/LC-77 (Ab77), (С) антител HC-79/LC-79 (Ab79), (D) антител HC-81/LC-81 (Ab81) и (Е) антител HC-85/LC-85 (Ab85) в указанных условиях инкубации (см. Легенду) после анализа с помощью хроматографии с гидрофобным взаимодействием (HIC).

На фиг. 15 графически представлены результаты анализов гибели клеток *in vitro*, которые демонстрируют жизнеспособность клеток Kasumi-1 при измерении с использованием люминесценции (RLU) с помощью Celltiter Glo в качестве функции концентрации указанного ADC против CD117 или контроля. IC50 (М) определили с помощью нелинейного регрессионного подбора по 4 параметрам в Graphpad Prism.

На фиг. 16 графически представлены результаты анализов гибели клеток *in vitro*, которые демонстрируют подсчет жизнеспособных клеток CD34⁺ CD90⁺ в качестве функции концентрации указанного ADC против CD117 или контроля. IC50 (М) определяли с помощью нелинейного регрессионного подбора по 4 параметрам в Graphpad Prism.

На фиг. 17А и 17В графически представлены результаты анализа истощения клеток *in vivo*, который демонстрирует, что доза 0,3 мг/кг ADC с антителами HC-85/LC-85 (то есть Ab85) избирательно истощает человеческие HSC у гуманизированных мышей NSG. (А) Показана доля человеческих миелоидных клеток, имеющихся в периферической крови мышей, получавших лечение Ab85-ADC или контролем, выраженная в виде процентного

значения этой популяции клеток перед лечением (нормировано по исходному уровню) и показанная для образцов, собранных на 0, 7 и 14 день. (В) показано абсолютное количество клеток CD34⁺ в костном мозге мышей, получавших лечение HC-85/LC-85-ADC (то есть Ab85-ADC) или контролем, через 14 дней после разового введения ADC или контроля (то есть PBS).

На фиг. 18 графически представлены результаты анализа токсичности *in vitro* с использованием клеток CD34⁺ человеческого костного мозга на участок антитела против CD117 (СК6), специфически конъюгированный с разными цитотоксинами. Результаты демонстрируют, что антитела против CD117 (СК6), конъюгированные с аманитином, приводили к >90% истощению человеческих HSC у гуманизированных мышей при 0,3 мг/кг. Эти результаты также демонстрируют, что ADC с калихимицином и аманитином демонстрируют сопоставимое истощение HSC.

На фиг. 19 графически представлено количество гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников в костном мозге. Результаты демонстрируют, что разовая доза аманитина, конъюгированного с антителом против CD117 (CD117-AM), уничтожает HSC костного мозга у макак-крабоедов. Самцы макак-крабоедов получали разовую в/в дозу антител против CD117-AM, изотип-AM (IgG1-AM) или неконъюгированных антител против CD117. Число HSC костного мозга определяли с помощью проточной цитометрии через 7 дней после введения. Долю HSC, истощенных после лечения антителами против CD117-AM, IgG1-AM или неконъюгированными антителами против CD117, рассчитывали относительно группы PBS.

На фиг. 20 графически представлено количество гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников в костном мозге. Результаты демонстрируют, что разовая доза или дробная доза аманитина, конъюгированного с антителом против CD117 (HC-85-LC 85), модифицированным с помощью Fc с коротким временем полураспада (H435A), уничтожает HSC костного мозга у макак-крабоедов. Самцы макак-крабоедов получали разовую в/в дозу (0,1 или 0,3 мг/кг) или дробную в/в дозу (0,3 мг/кг и 0,2 мг/кг Q3D) ADC против CD117. Число HSC костного мозга определяли с помощью проточной цитометрии через 7 дней после введения.

На фиг. 21A, 21B и 21C графически представлены результаты исследования выживаемости с использованием трех ксенотрансплантатов, полученных у пациентов с AML, полученных из образцов FLT-3+NPM1+ AML, демонстрирующие, что выживаемость существенно увеличивалась в моделях мышей, которым вводили 0,3 мг/кг антител против CD117-аманитин или 1 мг/кг антител против CD117-аманитин. (А) Кривая выживаемости AML-PDX, полученных из образца FLT-3+NPM1+ AML J000106132 после разового внутривенного введения ADC (антитела против CD117-AM, изотип-AM), неконъюгированных антител против CD117 или PBS (контроль). (В) Кривая выживаемости AML-PDX, полученных из образца FLT-3+NPM1+ AML J000106565 после разового внутривенного введения ADC (антитела против CD117-AM, изотип-AM), неконъюгированных антител против CD117 или PBS (контроль). (С) Кривая выживаемости

AML-PDX, полученных из образца FLT-3+NPM1+ AML J000106134 после разового внутривенного введения ADC (антитела против CD117-AM, изотип-AM), неконъюгированных антител против CD117 или PBS (контроль).

На фиг. 22 показано измерение с помощью биослойной интерферометрии (BLI) связывания указанного очищенного IgG (связанного с сенсором) со 100 нМ очищенного человеческого эктодомена CD117 (R&D Systems #332-SR) в виде функции времени. Очищенные IgG соответствуют Ab17 (то есть 017), Ab18 (то есть 018), Ab19 (то есть 019), Ab20 (то есть 020), Ab21 (то есть 021), Ab22 (то есть 022), Ab23 (то есть 023), Ab24 (то есть 024), Ab25 (то есть 025), Ab27 (то есть 027) и Ab28 (то есть 028).

На фиг. 23 показано измерение с помощью биослойной интерферометрии (BLI) связывания указанного очищенного IgG (связанного с сенсором) со 100 нМ очищенного эктодомена CD117 макаки-резус в виде функции времени. Очищенные IgG соответствуют Ab17 (то есть 017), Ab18 (то есть 018), Ab19 (то есть 019), Ab20 (то есть 020), Ab21 (то есть 021), Ab22 (то есть 022), Ab23 (то есть 023), Ab24 (то есть 024), Ab25 (то есть 025), Ab27 (то есть 027) и Ab28 (то есть 028).

Подробное Описание

В данном документе описаны выделенные человеческие антитела против CD117, которые связываются с человеческим CD117. Антитела, представленные в данном документе, имеют много характеристик, делающих их предпочтительными для терапии, включая способы подготовки пациентов-людей для трансплантации стволовых клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления антитела, раскрытые в данном документе, имеют высокую аффинность и низкую скорость диссоциации для человеческого CD117, а также способность интернализации в клетках, экспрессирующих CD117. Кроме того, некоторые антитела, представленные в данном документе, имеют улучшенную биофизическую стабильность. Эти особенности также делают антитела против CD117, раскрытые в данном документе, предпочтительными для использования в конъюгатах (конъюгатах антитело-лекарственное средство (ADC)) для доставки цитотоксинов в экспрессирующие CD117 клетки.

В изобретении представлены антитела против CD117, специфически выделенные человеческие антитела против CD117, которые связываются с эктодоменом человеческого CD117. Связывающие области выделенных антител против CD117, идентифицированных в данном документе, описаны ниже и в таблице 1, таблице 6 и таблице 8.

Антитела и ADC против CD117, описанные в данном документе, можно использовать, среди прочего, в способах лечения множества заболеваний, таких как заболевания какого-то типа клеток в гемопоэтической линии, рак, аутоиммунные заболевания, нарушения обмена веществ и нарушения функции стволовых клеток. Композиции и способы, описанные в данном документе, могут (i) непосредственно истощать популяцию клеток, которые вызывают патологию, например, популяцию раковых клеток (например, лейкозных клеток) и аутоиммунных клеток (например, аутореактивных Т-клеток), и/или (ii) истощать популяцию эндогенных гемопоэтических стволовых клеток,

чтобы способствовать приживлению трансплантированных гемопоэтических стволовых клеток за счет создания ниши, в которой могут находиться трансплантированные клетки. Вышеупомянутая активность может достигаться путем введения ADC, антител или их антигенсвязывающих фрагментов, способных связывать антиген, экспрессируемый эндогенной вызывающей болезнь клеткой или гемопоэтической стволовой клеткой. В случае непосредственного лечения заболевания это введение может вызывать уменьшение количества клеток, которые вызывают интересующую патологию. В случае подготовки пациента к трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками это введение может вызывать избирательное истощение популяции эндогенных гемопоэтических стволовых клеток, создавая таким образом свободное место в гемопоэтической ткани, такой как костный мозг, которое может впоследствии быть заполнено трансплантированными, экзогенными гемопоэтическими стволовыми клетками. Изобретение частично основано на открытии, что ADC, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, способные связывать CD117 (такие как GNNK+ D117), можно вводить пациенту, чтобы вызвать оба приведенные выше действия. ADC, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают CD117, можно вводить пациенту с раком или аутоиммунным заболеванием для прямого истощения популяции раковых клеток или аутоиммунных клеток, и, а также можно вводить пациенту, нуждающемуся в трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками, чтобы способствовать выживаемости и приживлению потенциальных трансплантированных гемопоэтических стволовых клеток.

Приживление трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток вследствие введения ADC против CD117, антител или их антигенсвязывающих фрагментов может проявляться в разных эмпирических измерениях. Например, приживление трансплантированных гемопоэтических стволовых клеток можно оценивать путем оценки количества единиц конкурентной репопуляции (CRU), имеющих в костном мозге пациента после введения ADC, антител или их антигенсвязывающих фрагментов, способных связывать CD117, и последующего введения трансплантата гемопоэтических стволовых клеток. Кроме того, приживление трансплантата гемопоэтических стволовых клеток можно наблюдать путем включения репортерного гена, такого как фермент, который катализирует химическую реакцию с получением флуоресцентного, хромофорного или люминесцентного продукта, в вектор, которым трансфицируют донорские гемопоэтические стволовые клетки, и впоследствии мониторинга соответствующего сигнала в ткани, в которую поместили гемопоэтические стволовые клетки, такой как костный мозг. Также можно наблюдать приживление гемопоэтических стволовых клеток путем оценки количества и выживаемости гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников, например, при определении с помощью методов анализа сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), известных в данной области. Приживление также можно определять путем измерения количества белых кровяных клеток в периферической крови в период после трансплантации и/или путем

измерения восстановления клеток костного мозга донорскими клетками в образце аспирата костного мозга.

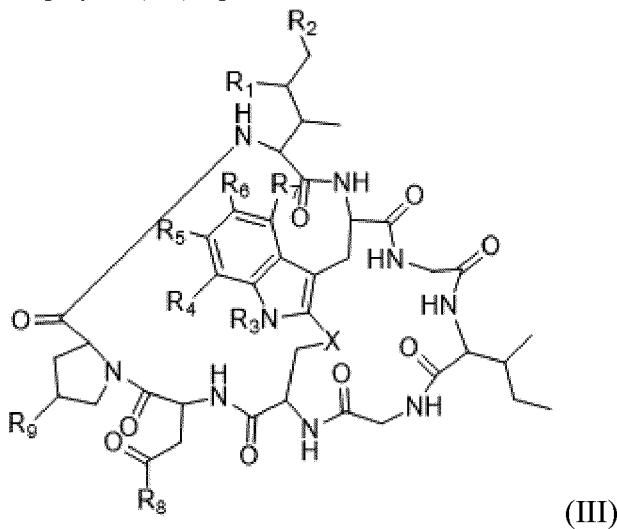
В следующем далее разделе представлено описание ADC, антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые можно вводить пациенту, такому как пациент с раком (таким как острый мейлобластный лейкоз или миелодиспластический синдром) или аутоиммунным заболеванием, или пациенту, нуждающемуся в трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками, чтобы способствовать приживлению трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток, а также способов введения таких терапевтических средств пациенту (например, перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток).

Определения

В рамках настоящего изобретения термин «приблизительно» относится к значению, которое находится в пределах 10% выше или ниже описанного значения. Например, термин «приблизительно 5 нМ» указывает диапазон от 4,5 нМ до 5,5 нМ.

В рамках настоящего изобретения термин «аматоксин» относится к члену семейства пептидов аматоксинов, продуцируемых грибами *Amanita phalloides* или его вариантам или производным, таким как его вариант или производное, способное ингибировать активность РНК-полимеразы II. Аматоксины, используемые в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе, включают соединения согласно, но без ограничения, формуле (III), в том числе α -аманитин, β -аманитин, γ -аманитин, ε -аманитин, аманин, аманинамид, амануллин, амануллиновую кислоту или проамануллин. Как описано в данном документе, аматоксины могут быть конъюгированы с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, например, с помощью линкерного фрагмента (L) (образуя таким образом ADC). Иллюстративные способы конъюгации аматоксина и линкеров, используемых для таких методов, описаны ниже. В данном документе также описаны иллюстративные содержащие линкеры аматоксины, используемые для конъюгации с антителом или антигенсвязывающим фрагментом согласно композициям и способам.

Формула (III) представлена далее:



где R_1 представляет H, OH или OR_A ;

R_2 представляет H, OH или OR_B ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

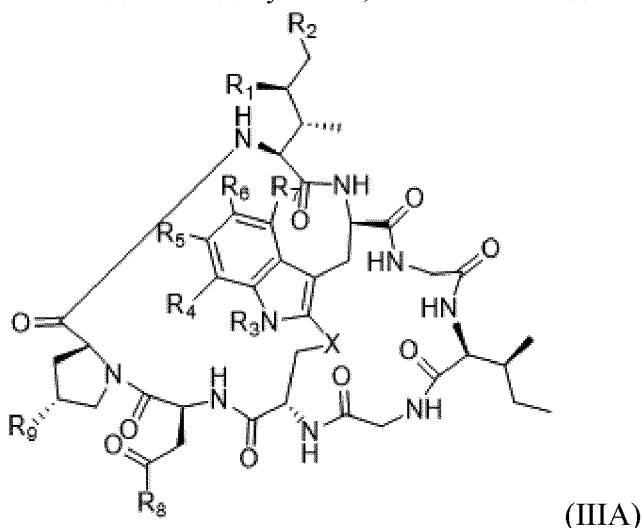
R_8 представляет OH, NH_2 или OR_D ;

R_9 представляет H, OH или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-; а

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил.

Например, аматоксины используемые в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе, включают соединения согласно формуле (IIIА) ниже:



где R_1 представляет H, OH или OR_A ;

R_2 представляет H, OH или OR_B ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

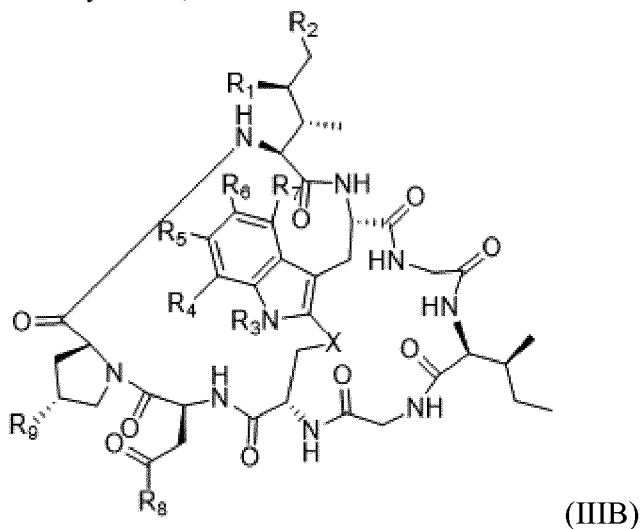
R_8 представляет OH, NH_2 или OR_D ;

R_9 представляет H, OH или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-; а

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил.

Аматоксины, используемые в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе, также включают соединения согласно формуле (IIIВ) ниже:



где R_1 представляет H, OH или OR_A ;

R_2 представляет H, OH или OR_B ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_D или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 или OR_D ;

R_9 представляет H, OH или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-; а

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил),

необязательно замещенный гетероалкил (например, C_1 - C_6 гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C_2 - C_6 алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C_2 - C_6 гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C_2 - C_6 алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C_2 - C_6 гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил.

Как описано в данном документе, аматоксины могут быть конъюгированы с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, например, с помощью линкерного фрагмента (L) (образуя таким образом ADC). Иллюстративные способы конъюгации аматоксина и линкеров, используемых для таких методов, описаны ниже, включая таблицу 3. Иллюстративные содержащие линкеры аматоксины, используемые для конъюгации с антителом или антигенсвязывающим фрагментом, согласно композициям и способам, описанным в данном документе, показаны в структурных формулах (I), (IA), (IB), (II), (IIA) или (IIB), приведенных в данном документе.

В рамках настоящего изобретения термин «антитело» относится к молекуле иммуноглобулина, которая специфически связывается с или иммунологически реагирует с конкретным антигеном и содержит моноклональные, генетически сконструированные и иным образом модифицированные формы антител, включая, но без ограничения, химерные антитела, гуманизированные антитела, гетероконъюгированные антитела (например, би-три- и тетра-специфические антитела, диатела, триатела и тетратела) и антигенсвязывающие фрагменты антител, включая, например, Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG и фрагменты scFv.

Антитела согласно настоящему изобретению обычно являются выделенными или рекомбинантными. «Выделенный» при использовании в данном документе относится к полипептиду, например, антителу, которое было идентифицировано и выделено и/или извлечено из клетки или клеточной культуры, в которой оно экспрессируется. Обычно, выделенные антитела получают с помощью по меньшей мере одного этапа очистки. В связи с этим «выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу не содержит другие антитела, имеющие иную антигенную специфичность. Например, выделенные антитела, которые специфически связываются с CD117, по существу не содержат антитела, которые специфически связывают антигены, не являющиеся CD117.

Если не указано иное, подразумевается, что термин «моноклональное антитело» (mAb) включает как интактные молекулы, так и фрагменты антител (включая, например, фрагменты Fab и F(ab')₂), которые способны специфически связываться с белком-мишенью. В рамках настоящего изобретения фрагменты Fab и F(ab')₂ относятся к фрагментам антител, в которых отсутствует фрагмент Fc интактного антитела. В данном документе описаны примеры этих фрагментов антител.

Обычно антитела содержат тяжелую и легкую цепи, содержащую антигенсвязывающие области. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (в данном документе сокращенно обозначено HCVR или VH) и константной

области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (в данном документе сокращенно обозначено LCVR или VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена CL. Области VH и VL можно дополнительно разделить на области гипервариабельности, называемые определяющие комплементарность области (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента.

«Интактное» или «полноразмерное» антитело в рамках настоящего изобретения относится к антителу, имеющему два полипептида тяжелой (H) цепи и два полипептида легкой (L) цепи, связанных дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (в данном документе сокращенно обозначено HCVR или VH) и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (в данном документе сокращенно обозначено LCVR или VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена, CL. Области VH и VL можно дополнительно разделить на области гипервариабельности, называемые определяющие комплементарность области (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента.

Термины «Fc», «область Fc», и «домен Fc» в рамках настоящего изобретения относятся к участку IgG антитела, который коррелирует с кристаллизующимся фрагментом, полученным путем расщепления папаином молекулы IgG. Область Fc содержит С-концевую половину двух тяжелых цепей молекулы IgG, которые связаны дисульфидными связями. Она не обладает антигенсвязывающей активностью, но содержит углеводный фрагмент и участки связывания для комплемента и рецепторов Fc, включая рецептор FcRn. Область Fc содержит второй константный домен CH2 (например, остатки в позициях ЕС 231-340 IgG1) и третий константный домен CH3 (например, остатки в

позициях ЕС 341-447 человеческого IgG1). В рамках настоящего изобретения область Fc содержит «нижнюю шарнирную область» (например, остатки в позициях ЕС 233-239 IgG1). Fc может относиться к этой области в отдельности или к этой области в контексте антитела, фрагмента антитела или белка слияния Fc. В ряде позиций в доменах Fc наблюдались полиморфизмы, включая, но без ограничения, позиции ЕС 270, 272, 312, 315, 356 и 358, и, таким образом, между последовательностями, представленными в настоящей заявке, и последовательностями, известными в данной области, могут существовать небольшие различия. В связи с этим «домен Fc IgG дикого типа» или «домен Fc IgG WT» относится к любой области Fc IgG естественного происхождения (то есть к любому аллелю). Последовательности тяжелых цепей человеческого IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 можно найти в ряде баз данных последовательностей, например, в базе данных Uniprot (www.uniprot.org) под регистрационными номерами P01857 (IGHG1_HUMAN), P01859 (IGHG2_HUMAN), P01860 (IGHG3_HUMAN) и P01861 (IGHG1_HUMAN), соответственно. Пример области Fc «WT» представлен в SEQ ID NO:183 (в которой представлена константная область тяжелой цепи, содержащая область Fc).

Термины «модифицированная область Fc» или «вариантная область Fc» в рамках настоящего изобретения относятся к домену Fc IgG, содержащему одну или несколько аминокислотных замен, делеций, вставок или модификаций, введенных в любой позиции внутри области Fc.

Термин «антигенсвязывающий фрагмент» в рамках настоящего изобретения относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном-мишенью. Антигенсвязывающая функция антитела может осуществляться фрагментами полноразмерного антитела. Фрагментами антител могут быть, например, Fab, F(ab')₂, scFv, диатело, триатело, аффитело, нанотело, аптамер или доменное антитело. Примеры фрагментов связывания, охваченных термином «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, включают, но без ограничения: (i) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L, V_H, C_L и C_H1; (ii) фрагмент F(ab')₂, бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов V_H и C_H1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча антитела, (v) dAb, содержащее домены V_H и V_L; (vi) фрагмент dAb, который состоит из домена V_H (см., например, Ward et al. *Nature* 341:544-546, 1989); (vii) dAb, которое состоит из домена V_H или V_L; (viii) выделенную определяющую комплементарность область (CDR); и (ix) комбинацию двух или более (например, двух, трех, четырех, пяти или шести) выделенных CDR, которые необязательно могут быть соединены синтетическим линкером. Кроме того, хотя два домена V_L и V_H фрагмента Fv кодируются разными генами, их можно соединить, используя рекомбинантные методы, линкером, который обеспечивает их получение в виде единой белковой цепи, в которой области V_L и V_H спарены с образованием моновалентных молекул (известных как одноцепочечный Fv (scFv); см., например, Bird et al. *Science* 242:423-426, 1988 и Huston et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883, 1988). Эти фрагменты антител

можно получить с использованием обычных методик, известных специалистам в данной области, и фрагменты можно скринировать по полезности таким же образом, как интактные антитела. Антигенсвязывающие фрагменты можно получать с помощью методов рекомбинантной ДНК, ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов, или в некоторых случаях с помощью методов химического синтеза пептидов, известных в данной области.

В рамках настоящего изобретения термин «антитело против CD117» или «антитело, которое связывается с CD117», относится к антителу, способному с достаточной аффинностью связывать CD117 таким образом, чтобы антитело можно было использовать в качестве диагностического и/или терапевтического средства при нацеливании на CD117.

В рамках настоящего изобретения термин «биспецифическое антитело» относится, например, к моноклональному, часто к человеческому или гуманизированному антителу, способному связывать по меньшей мере два разных антигена. Например, одна из специфичностей связывания может быть направлена на поверхностный антиген гемопоэтической стволовой клетки, CD117 (например, GNNK+ CD117), а другая может специфически связывать другой поверхностный антиген гемопоэтической стволовой клетки или другой белок клеточной поверхности, такой как рецептор или субъединица рецептора, вовлеченного в путь передачи сигнала, который, среди прочего, обеспечивает возможность роста клетки.

В рамках настоящего изобретения термин «определяющая комплементарность область» (CDR) относится к гипервариабельной области, находящейся в вариабельных доменах как легкой цепи, так и тяжелой цепи антитела. Более высококонсервативные части вариабельных доменов называются каркасными областями (FR). Позиции аминокислот, которые определяют гипервариабельную область антитела, могут варьировать в зависимости от контекста и различных определений, известных в данной области. Некоторые позиции внутри вариабельного домена можно рассматривать, как гибридные гипервариабельные позиции в том смысле, что по одному набору критериев можно считать, что эти позиции находятся внутри гипервариабельной области, хотя по другому набору критериев можно считать, что они находятся за пределами гипервариабельной области. Одну или несколько из этих позиций также можно найти в расширенных гипервариабельных областях. Антитела, описанные в данном документе, могут содержать модификации в этих гибридных гипервариабельных позициях. Каждый вариабельный домен нативных тяжелой и легкой цепей содержит четыре каркасные области, которые в основном принимают конфигурацию β -листа, соединенного тремя CDR, которые образуют петли, которые соединяют и в некоторых случаях образуют часть структуры β -листа. В каждой цепи CDR удерживаются каркасными областями вместе в непосредственной близости в порядке FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 и с CDR из других цепей антитела, участвуют в образовании связывающего мишень участка антител (см. Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institute of Health, Bethesda, MD., 1987). В некоторых вариантах осуществления, если не указано иное, нумерацию

аминокислотных остатков иммуноглобулина проводят согласно системе нумерации аминокислотных остатков иммуноглобулина Kabat et al. (хотя можно использовать любую схему нумерации антител, включая, но без ограничения, IMGT и Chothia).

В рамках настоящего изобретения термины «состояние» и «подготовка» относятся к процессам, с помощью которых пациента готовят к приему трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки. Такие методы способствуют приживлению трансплантата гемопоэтических стволовых клеток, например, как следует из устойчивого увеличения количества жизнеспособных гемопоэтических стволовых клеток в образце крови, взятом у пациента после процедуры подготовки и последующей трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Согласно способам, описанным в данном документе, пациента можно подготовить к трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками путем введения пациенту ADC, антител или их антигенсвязывающих фрагментов, способных связывать антигены, экспрессируемые гемопоэтическими стволовыми клетками, такими как CD117 (например, GNNK+ CD117). Как описано в данном документе, антитело может быть ковалентно конъюгировано с цитотоксином с образованием ADC. Введение антител, их антигенсвязывающих фрагментов или ADC, способных связывать один или несколько вышеупомянутых антигенов пациенту, нуждающемуся в трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками, может способствовать приживлению трансплантата гемопоэтических стволовых клеток, например, путем избирательного истощения эндогенных гемопоэтических стволовых клеток, создавая таким образом свободное место, заполненное экзогенным трансплантатом гемопоэтических стволовых клеток.

В рамках настоящего изобретения термин «конъюгат» относится к соединению, образованному путем химического связывания реакционноспособной функциональной группы одной молекулы, такой как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с подходящей реакционноспособной функциональной группой другой молекулы, такой как цитотоксин, описанный в данном документе. Конъюгаты могут содержать линкер между двумя молекулами, связанными друг с другом. Примеры линкеров, которые можно использовать для образования конъюгата, включают пептид-содержащие линкеры, такие как линкеры, которые содержат аминокислоты естественного происхождения или не естественного происхождения, такие как D-аминокислоты. Линкеры можно получать с использованием множества стратегий, описанных в данном документе и известных в данной области. В зависимости от своих реакционноспособных компонентов линкер можно расщеплять, например, посредством ферментативного гидролиза, протолиза, гидролиза в кислых условиях, гидролиза в щелочных условиях, окисления, дисульфидного восстановления, нуклеофильного расщепления или органометаллического расщепления (см., например, Leriche et al. *Bioorg. Med. Chem.* 20:571-582, 2012). Вышеупомянутые конъюгаты также упоминаются в данном документе взаимозаменяемо, как «конъюгат лекарственное средство-антитело», «конъюгат антитело-лекарственное средство» и «ADC».

В рамках настоящего изобретения термин «реакция соединения» относится к химической реакции, в которой два или более заместителя, подходящих для реакции друг с другом, вступают в реакцию с образованием химического фрагмента, который соединяет (например, ковалентно) молекулярные фрагменты, связанные с каждым заместителем. Реакции соединения включают реакции, в которых реакционноспособный заместитель, связанный с фрагментом, который представляет цитотоксин, такой как цитотоксин, известный в данной области или описанный в данном документе, вступает в реакцию с подходящим реакционноспособным заместителем, связанным с фрагментом, который представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфический к CD117 (такому как GNNK+ CD117), известный в данной области или описанный в данном документе. Примеры подходящих реакционноспособных заместителей включают, среди прочего, пару нуклеофил/электрофил (такую как пара тиол/галоалкил, пара амин/карбонил или пара тиол/ α,β -ненасыщенный карбонил), пару диен/диенофил (такую как, среди прочего, пара азид/алкин) и тому подобное. Реакции соединения включают, но без ограничения, алкилирование тиола, алкилирование гидроксила, алкилирование амина, конденсацию амина, амидирование, эстерификацию, образование дисульфидов, циклоприсоединение (например, среди прочего [4+2] циклоприсоединение по методу Дильса-Альдера, [3+2] циклоприсоединение по методу Хуисгена), нуклеофильное ароматическое замещение, электрофильное ароматическое замещение и другие методы проведения реакций, известные в данной области или описанные в данном документе.

В рамках настоящего изобретения «CRU (единица конкурентной репопуляции)» относится к единице измерения долгосрочного приживания стволовых клеток, которые можно обнаружить после трансплантации *in-vivo*.

В рамках настоящего изобретения «соотношение лекарственное средство-антитело» или «DAR» относится к количеству цитотоксинов, например, аматоксина, прикрепленных к антителу ADC. DAR в ADC может варьировать от 1 до 8, хотя в зависимости от количества участков связывания на антитело также возможна повышенная нагрузка. В связи с этим в некоторых вариантах осуществления ADC, описанные в данном документе, имеют DAR 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

В рамках настоящего изобретения термин «донор» относится к человеку или животному, у которого перед введением реципиенту клеток или их потомства выделяют одну или несколько клеток. Одной или несколькими клетками может быть, например, популяция гемопоэтических стволовых клеток.

В рамках настоящего изобретения термин «диатело» относится к бивалентному антителу, содержащему две полипептидные цепи, где каждая полипептидная цепь содержит домены V_H и V_L , соединенные линкером, который является слишком коротким (например, линкером, состоящим из пяти аминокислот), чтобы обеспечить внутримолекулярную связь доменов V_H и V_L в одной и той же пептидной цепи. Эта конфигурация обеспечивает образование пары из каждого домена и комплементарного

домена в другой полипептидной цепи с образованием гомодимерной структуры. Соответственно, термин «триатело» относится к трехвалентным антителам, содержащим три пептидные цепи, каждая из которых содержит один домен V_H и один домен V_L , соединенные линкером, который является чрезвычайно коротким (например, линкером, состоящим из 1-2 аминокислот), чтобы обеспечить внутримолекулярную связь доменов V_H и V_L внутри одной и той же пептидной цепи. Для складывания в их нативные структуры пептиды, имеющие подобную конфигурацию, обычно тримеризуют, чтобы положение доменов V_H и V_L соседних пептидных цепей было пространственно рядом друг с другом (см., например, Holliger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-48, 1993).

В рамках настоящего изобретения «иммуноглобулин с двойным переменным доменом» («DVD-Ig») относится к антителу, которое объединяет связывающие мишень переменные домены двух моноклональных антител посредством линкеров с созданием единого четырехвалентного средства двойного нацеливания (см., например, Gu et al. *Meth. Enzymol.* 502:25-41, 2012).

В рамках настоящего изобретения термин «эндогенный» описывает вещество, такое как молекула, клетка, ткань или орган (например, гемопоэтическая стволовая клетка или клетка гемопоэтической линии, такая как мегакариоцит, тромбоцит, кровяная пластинка, эритроцит, тучная клетка, миобласт, базофил, нейтрофил, эозинофил, микроглиальная клетка, гранулоцит, моноцит, остеокласт, антигенпрезентирующая клетка, макрофаг, дендритная клетка, клетка естественный киллер, Т-лимфоцит или В-лимфоцит), который естественным образом находится в конкретном организме, таком как пациент-человек.

В рамках настоящего изобретения термин «потенциал приживления» используют для обозначения способности гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников восстанавливать популяцию в ткани, независимо от того, находятся ли такие клетки в кровотоке естественным путем или обеспечены за счет трансплантации. Термин охватывает все явления, окружающие или приводящие к приживлению, такие как возврат клеток в ткань и колонизация клетками интересующей ткани. Эффективность приживления или скорость приживления можно количественно оценивать или измерять с использованием любого клинически приемлемого параметра, который известен специалистам в данной области и может включать, например, оценку единицы конкурентной репопуляции (CRU); включение или экспрессию маркера в ткани (тканях), в которую стволовые клетки были помещены, колонизированы или трансплантированы; или путем оценки прохождения прогрессирования заболевания у субъекта, выживаемости гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников или выживаемости реципиента. Приживление также можно определять путем измерения количества белых кровяных клеток в периферической крови в период после трансплантации. Приживление также можно оценивать путем измерения восстановления клеток костного мозга донорскими клетками в образце аспирата костного мозга.

В рамках настоящего изобретения термин «экзогенный» описывает вещество, такое как молекула, клетка, ткань или орган (например, гемопоэтическая стволовая клетка или

клетка гемопоэтической линии, такая как мегакариоцит, тромбоцит, кровяная пластинка, эритроцит, тучная клетка, миобласт, базофил, нейтрофил, эозинофил, микроглиальная клетка, гранулоцит, моноцит, остеокласт, антигенпрезентирующая клетка, макрофаг, дендритная клетка, клетка естественный киллер, Т-лимфоцит или В-лимфоцит), которое отсутствует в конкретном организме в естественных условиях, таком как пациент-человек. Экзогенные вещества включают вещества, которые поступают в организм или в экстрактированное из него культивируемое вещество из внешнего источника.

В рамках настоящего изобретения термин «каркасная область» или «FW область» содержит аминокислотные остатки, которые примыкают к CDR антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Остатки FW области могут иметься, например, среди прочего, в человеческих антителах, гуманизированных антителах, моноклональных антителах, фрагментах антител, фрагментах Fab, одноцепочечных фрагментах антител, фрагментах scFv, доменах антител и биспецифических антителах.

В рамках настоящего изобретения термин «гемопоэтические стволовые клетки» («HSC») относится к незрелым клеткам крови, обладающим способностью к самообновлению и к дифференцировке в зрелые клетки крови, содержащие различные линии, включая, но без ограничения, гранулоциты (например, промиелоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), эритроциты (например, ретикулоциты, эритроциты), тромбоциты (например, мегакариобласты, продуцирующие кровяные пластинки мегакариоциты, кровяные пластинки), моноциты (например, моноциты, макрофаги), дендритные клетки, микроглии, остеокласты и лимфоциты (например, NK-клетки, В-клетки и Т-клетки). Такие клетки могут включать клетки CD34+. Клетки CD34+ представляют собой незрелые клетки, которые экспрессируют маркер поверхности клетки CD34. Полагают, что у людей клетки CD34+ включают субпопуляцию клеток со свойствами стволовых клеток согласно определению выше, тогда как у мышей, HSC представляют собой CD34-. Кроме того, HSC также относятся к долгосрочно репопулирующим HSC (LT-HSC) и краткосрочно репопулирующим HSC (ST-HSC). LT-HSC и ST-HSC дифференцируют на основе функционального потенциала и экспрессии маркера поверхности клетки. Например, человеческими HSC являются CD34+, CD38-, CD45RA-, CD90+, CD49F+ и lin- (отрицательные для маркеров зрелых линий, включая CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD11B, CD19, CD20, CD56, CD235A). У мышей LT-HSC костного мозга являются CD34-, SCA-1+, C-kit+, CD135-, Slamf1/CD150+, CD48- и lin- (отрицательные для маркеров зрелых линий, включая Ter119, CD11b, Gr1, CD3, CD4, CD8, B220, IL7 α), тогда как ST-HSC являются CD34+, SCA-1+, C-kit+, CD135-, Slamf1/CD150+ и lin- (отрицательные для маркеров зрелых линий, включая Ter119, CD11b, Gr1, CD3, CD4, CD8, B220, IL7 α). Кроме того, ST-HSC меньше находятся в покое и являются более пролиферативными, чем LT-HSC в гомеостатических условиях. Однако, LT-HSC обладают большим потенциалом самообновления (то есть они жизнеспособны на протяжении всего состояния зрелости, и их можно серийно трансплантировать последующим реципиентам), тогда как ST-HSC обладают ограниченным самообновлением (то есть они жизнеспособны только в течение

ограниченного периода времени и не обладают потенциалом серийной трансплантации). Любые из этих HSC можно использовать в способах, описанных в данном документе. ST-HSC особенно полезны, потому что они являются высокопролиферативными и в связи с этим могут более быстро давать начало дифференцированному потомству.

В рамках настоящего изобретения термин «функциональный потенциал гемопоэтических стволовых клеток» относится к функциональным свойствам гемопоэтических стволовых клеток, которые включают 1) мультипотентность (которая относится к способности дифференцироваться во множество разных клеточных линий крови, включая, но без ограничения, гранулоциты (например, промиелоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), эритроциты (например, ретикулоциты, эритроциты), тромбоциты (например, мегакариобласты, продуцирующие кровяные пластинки мегакариоциты, кровяные пластинки), моноциты (например, моноциты, макрофаги), дендритные клетки, микроглии, остеокласты и лимфоциты (например, NK-клетки, В-клетки и Т-клетки), 2) самообновление (которое относится к способности гемопоэтических стволовых клеток давать дочерние клетки, которые обладают эквивалентным потенциалом, как у материнских клеток и, кроме того, эта способность может повторяться в течение всей жизни человека без истощения) и 3) способность гемопоэтических стволовых клеток или их потомства к реинтродукции реципиенту с трансплантатом, после чего они занимают нишу гемопоэтических стволовых клеток и восстанавливают продуктивный и устойчивый гемопоэз.

В рамках настоящего изобретения термин «человеческое антитело» предназначен включать антитела, имеющие переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии. Человеческое антитело может содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии (например, мутации, введенные путем случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или во время перегруппировки генов или путем соматической мутации *in vivo*). Однако, термин «человеческое антитело» в рамках настоящего изобретения не предназначен включать антитела, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мыши, были трансплантированы в человеческие каркасные последовательности. Человеческое антитело можно получать в человеческой клетке (например, путем рекомбинантной экспрессии) или с помощью клетки не являющегося человеком животного или прокариотической или эукариотической клетки, способной экспрессировать функционально перегруппированные гены человеческого иммуноглобулина (например, тяжелой цепи и/или легкой цепи). Когда человеческое антитело представляет одноцепочечное антитело, оно может содержать линкерный пептид, который отсутствует в нативных человеческих антителах. Например, Fv может содержать линкерный пептид, например, приблизительно от двух до восьми глицинов или других аминокислотных остатков, который соединяет переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. Считается, что такие линкерные пептиды имеют

человеческое происхождение. Человеческие антитела можно получать с помощью множества способов, известных в данной области, включая методы фагового дисплея с использованием библиотек антител, полученных из последовательностей человеческих иммуноглобулинов. Человеческие антитела также можно получать с использованием трансгенных мышей, которые не способны экспрессировать функциональные эндогенные иммуноглобулины, но которые могут экспрессировать гены человеческого иммуноглобулина (см., например, РСТ публикации №№ WO 1998/24893; WO 1992/01047; WO 1996/34096; WO 1996/33735; патенты США №№ 5413923; 5625126; 5633425; 5569825; 5661016; 5545806; 5814318; 5885793; 5916771; и 5939598).

В рамках настоящего изобретения пациенты, которые «нуждаются в» трансплантате гемопоэтических стволовых клеток, включают пациентов, которые демонстрируют дефект или дефицит одного или нескольких типов клеток крови, а также пациентов, имеющих нарушение функции стволовых клеток, аутоиммунное заболевание, рак или другую патологию, описанную в данном документе. Гемопоэтические стволовые клетки обычно демонстрируют 1) мультипотенцию и в связи с этим могут дифференцироваться во множество разных клеточных линий крови, включая, но без ограничения, гранулоциты (например, промиелоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), эритроциты (например, ретикулоциты, эритроциты), тромбоциты (например, мегакариобласты, продуцирующие кровяные пластинки мегакариоциты, кровяные пластинки), моноциты (например, моноциты, макрофаги), дендритные клетки, микроглии, остеокласты и лимфоциты (например, NK-клетки, В-клетки и Т-клетки), 2) самообновление и в связи с этим могут давать дочерние клетки, которые обладают эквивалентным материнским клеткам потенциалом и 3) способность реинтродукции реципиенту с трансплантатом, после чего они занимают нишу гемопоэтических стволовых клеток и восстанавливают продуктивный и устойчивый гемопоэз. Гемопоэтические стволовые клетки в связи с этим можно вводить пациенту с дефектом или недостатком одного или нескольких типов клеток гемопоэтической линии, чтобы восстанавливать дефектную или недостающую популяцию клеток *in vivo*. Например, у пациента может быть рак, а дефицит может быть вызван введением химиотерапевтического средства или другого лекарственного препарата, который истощает, либо избирательно, либо не специфически, популяцию раковых клеток. Дополнительно или альтернативно, у пациента может быть гемоглобинопатия (например, не злокачественная гемоглобинопатия), такая как серповидноклеточная анемия, талассемия, анемия Фанкони, апластическая анемия и синдром Вискотта-Олдрича. Субъектом может быть субъект, у которого имеется аденозиндезаминазный тяжелый комбинированный иммунодефицит (ADA SCID), ВИЧ/СПИД, метакроматическая лейкодиistroфия, анемия Диямонда-Блэкфана и синдром Швахмана-Даймонда. У субъекта может быть или проявляться наследственное заболевание крови (например, серповидноклеточная анемия) или аутоиммунное заболевание. Дополнительно или альтернативно, у субъекта может быть или проявляться злокачественное заболевание, такое как нейробластома или гемобластоз. Например, у субъекта может быть лейкоз, лимфома

или миелома. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома или неходжкинская лимфома. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется миелодиспластический синдром. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется аутоиммунное заболевание, такое как склеродермия, рассеянный склероз, язвенный колит, болезнь Крона, диабет 1 типа или другая аутоиммунная патология, описанная в данном документе. В некоторых вариантах осуществления субъект нуждается в терапии с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CART). В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется или иным образом проявляется метаболическая болезнь накопления. У субъекта может быть или иным образом проявляться нарушение обмена веществ, выбираемое из группы, состоящей из болезни накопления гликогена, мукополисахаридозов, болезни Гоше, болезни Гурлера, сфинголипидоза, метахроматической лейкодиistroфии или любого другого заболевания или заболеваний, для которого может наблюдаться положительный эффект в результате лечения и терапии, раскрытых в данном документе, и включая, но без ограничения, тяжелый комбинированный иммунодефицит, синдром Вискотта-Олдрича, синдром гипериммуноглобулии М (IgM), болезнь Чедиака-Хигаши, наследственный лимфогистиоцитоз, остеопетроз, незавершенный остеогенез, болезни накопления, большую талассемию, серповидно-клеточную болезнь, системный склероз, системную красную волчанку, рассеянный склероз, ювенильный ревматоидный артрит и те заболевания или расстройства, которые описаны в «Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease», ASH Education Book, 1:319-338 (2000), раскрытие которого полностью включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к патологиям, которые можно лечить путем применения трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками. Дополнительно или альтернативно, пациентом, «нуждающимся в» трансплантате гемопоэтических стволовых клеток, может быть пациент, у которого имеется или проявляется одна из вышеупомянутых патологий, но который, тем не менее, демонстрирует пониженный уровень (например, по сравнению с уровнем другого здорового субъекта) одного или нескольких эндогенных типов клеток внутри гемопоэтической линии, таких как мегакариоциты, тромбоциты, кровяные пластинки, эритроциты, тучные клетки, миобласты, базофилы, нейтрофилы, эозинофилы, микроглии, гранулоциты, моноциты, остеокласты, антигенпрезентирующие клетки, макрофаги, дендритные клетки, клетки естественные киллеры, Т-лимфоциты и В-лимфоциты. Специалист в данной области может легко определить, снижается ли уровень одного или нескольких вышеупомянутых типов клеток или другого типа клеток крови, относительно другого здорового субъекта, например, с помощью методов проточной цитометрии и сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), среди других методов, известных в данной области.

В рамках настоящего изобретения термин «реципиент» относится к пациенту,

который получает трансплантат, такой как трансплантат, содержащий популяцию гемопоэтических стволовых клеток. Трансплантируемыми клетками, вводимыми реципиенту, могут быть, например, аутологичные, сингенные или аллогенные клетки.

В рамках настоящего изобретения термин «образец» относится к пробе (например, крови, компонента крови (например, сыворотки или плазмы), мочи, слюны, амниотической жидкости, спинномозговой жидкости, ткани (например, плаценты или кожи), поджелудочной железы, образцу ворсинок хориона и клеткам), взятой у субъекта.

В рамках настоящего изобретения термин «scFv» относится к одноцепочечному антителу Fv, в котором переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи антитела были соединены с образованием одной цепи. Фрагменты scFv содержат единственную полипептидную цепь, которая содержит переменную область легкой цепи (V_L) антитела (например, CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3) и переменную область тяжелой цепи (V_H антитела) (например, CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3), разделенные линкером. Линкером, который соединяет области V_L и V_H фрагмента scFv, может быть пептидный линкер, состоящий из протеиногенных аминокислот. Можно использовать альтернативные линкеры для повышения устойчивости фрагмента scFv протеолитическому расщеплению, (например, линкеры, содержащие D-аминокислоты), для усиления растворимости фрагмента scFv (например, гидрофильные линкеры, такие как содержащие полиэтиленгликоль линкеры или полипептиды, содержащие повторяющиеся остатки глицина и серина), для улучшения биофизической стабильности молекулы (например, линкер, содержащий остатки цистеина, которые образуют внутримолекулярные или межмолекулярные дисульфидные связи) или для ослабления иммуногенности фрагмента scFv (например, линкеры, содержащие участки гликозилирования). Рядовому специалисту в данной области также должно быть понятно, что переменные области молекул scFv, описанные в данном документе, можно модифицировать таким образом, чтобы они отличались по аминокислотной последовательности от молекулы антитела, из которой они были получены. Чтобы сохранить или усилить способность scFv связываться с антигеном, распознаваемым соответствующим антителом, можно получить, например, нуклеотидные или аминокислотные замены, которые приводят к консервативным заменам или изменениям аминокислотных остатков, (например, в остатках CDR и/или каркаса).

В рамках настоящего изобретения термины «субъект» и «пациент» относятся к организму, такому как человек, который получает лечение для конкретной болезни или состояния, как описано в данном документе. Например, пациент, такой как пациент-человек, может получать лечение перед трансплантационной терапией гемопоэтическими стволовыми клетками, чтобы способствовать приживлению экзогенных гемопоэтических стволовых клеток.

В рамках настоящего изобретения фраза «по существу не содержится в крови» относится к моменту времени после введения пациенту терапевтического средства (такого как антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент), когда концентрация терапевтического средства в образце крови, взятом у пациента такая, что терапевтическое

средство не обнаруживается обычными средствами (например, такими, что терапевтическое средство не обнаруживается выше пороговой чувствительности устройства или анализа, используемого для обнаружения терапевтического средства). Для обнаружения антител, фрагментов антител и лигандов белков можно использовать множество методик, известных в данной области, таких как анализы обнаружения на основе ELISA, известные в данной области или описанные в данном документе. Дополнительные анализы, которые можно использовать для обнаружения антител или фрагментов антител, включают, среди прочего, методики иммунопреципитации и анализы иммуноблоттинга, известные в данной области.

В рамках настоящего изобретения фраза «нарушение функции стволовых клеток» в широком смысле относится к любому заболеванию, расстройству или состоянию, которые можно лечить или санировать путем подготовки тканей-мишеней субъекта и/или путем удаления популяции эндогенных стволовых клеток в ткани-мишени (например, удаления популяции эндогенных гемопоэтических стволовых клеток или клеток-предшественников из ткани костного мозга субъекта) и/или путем приживления или трансплантации стволовых клеток в ткани-мишени субъекта. Например, было показано, что диабет I типа излечивается путем трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, и может быть польза в результате подготовки согласно композициям и способам, описанным в данном документе. В перечень дополнительных заболеваний, которые можно лечить с использованием композиций и способов, описанных в данном документе, включены, но без ограничения, серповидноклеточная анемия, талассемии, анемия Фанкони, апластическая анемия, синдром Вискотта-Олдрича, ADA SCID, ВИЧ/СПИД, метакроматическая лейкодистрофия, анемия Даймонда-Блэкфана и синдром Швахмана-Даймонда. В перечень дополнительных заболеваний, которые можно лечить с использованием способов подготовки пациента и/или трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, описанных в данном документе, входят наследственные заболевания крови (например, серповидноклеточная анемия) и аутоиммунные заболевания, такие как склеродермия, рассеянный склероз, язвенный колит и болезнь Крона. В перечень дополнительных заболеваний, которые можно лечить с использованием способов подготовки и/или трансплантации, описанных в данном документе, входят злокачественное заболевание, такое как нейробластома или гемобластоз, например, лейкоз, лимфома и миелома. Например, раком может быть острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома или неходжкинская лимфома. Дополнительные заболевания, которые можно лечить с использованием способов подготовки и/или трансплантации, описанных в данном документе, включают миелодиспластический синдром. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется или иным образом проявляется метаболическая болезнь накопления. Например, у субъекта может быть или иным образом проявляться нарушение обмена веществ, выбираемое из группы, состоящей из болезни накопления гликогена,

мукополисахаридозов, болезни Гоше, болезни Гурлера, сфинголипидоза, метахроматической лейкодистрофии или любого другого заболевания или заболеваний, для которого может наблюдаться положительный эффект в результате лечения и терапии, раскрытых в данном документе, и включая, но без ограничения, тяжелый комбинированный иммунодефицит, синдром Вискотта-Олдрича, синдром гипериммуноглобулии М (IgM), болезнь Чедиака-Хигаши, наследственный лимфогистиоцитоз, остеопетроз, незавершенный остеогенез, болезни накопления, большую талассемию, серповидно-клеточную болезнь, системный склероз, системную красную волчанку, рассеянный склероз, ювенильный ревматоидный артрит и те заболевания или расстройства, которые описаны в «Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease», ASH Education Book, 1:319-338 (2000), раскрытие которого полностью включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к патологиям, которые можно лечить путем применения трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками.

В рамках настоящего изобретения термин «трансфекция» относится к любой из большого множества методик, широко используемых для введения экзогенной ДНК в прокариотическую или эукариотическую клетку-хозяин, таких как электропорация, липофекция, осаждение фосфатом кальция, трансфекция диэтиламиноэтилдекстрана и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термины «лечить» или «лечение» относятся к уменьшению тяжести и/или частоты проявления симптомов заболевания, устранению симптомов заболевания и/или причины, лежащей в основе указанных симптомов, уменьшению частоты или вероятности симптомов заболевания и/или лежащей в их основе причины и к улучшению или устранению ущерба, вызванного заболеванием прямо или косвенно. Полезные или желательные клинические результаты включают, но без ограничения, стимулирование приживания экзогенных гемопоэтических клеток у пациента после подготовительной терапии антителами, как описано в данном документе, и последующей трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками. Дополнительные полезные результаты включают увеличение количества клеток или относительной концентрации гемопоэтических стволовых клеток у пациента, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток после подготовительной терапии и последующего введения трансплантата экзогенных гемопоэтических стволовых клеток пациенту. Полезные результаты терапии, описанные в данном документе, могут также включать увеличение количества клеток или относительной концентрации клеток одной или нескольких гемопоэтических линий, таких как мегакариоцит, тромбоцит, кровяная пластинка, эритроцит, тучная клетка, миобласт, базофил, нейтрофил, эозинофил, микроглиальная клетка, гранулоцит, моноцит, остеокласт, антигенпрезентирующая клетка, макрофаг, дендритная клетка, клетка естественный киллер, Т-лимфоцит или В-лимфоцит, после подготовительной терапии и последующей трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками. Дополнительные

полезные результаты могут включать уменьшение количества популяций вызывающих болезнь клеток, таких как популяция раковых клеток (например, лейкозных клеток CD117+) или аутоиммунных клеток (например, CD117+ аутоиммунных лимфоцитов, таких как Т-клетки CD117+, которые экспрессируют Т-клеточный рецептор, который вступает в перекрестную реакцию с аутоантигеном). Поскольку способы согласно настоящему изобретению направлены на профилактику заболеваний, понятно, что термин «предотвращать» не требует полного устранения состояния болезни. Вместо этого в рамках настоящего изобретения термин профилактика относится к способности квалифицированного специалиста идентифицировать популяцию, которая подвержена заболеваниям, так чтобы введение соединений согласно настоящему изобретению можно было проводить перед наступлением заболевания. Термин не подразумевает полного предотвращения болезненного состояния.

В рамках настоящего изобретения термины «вариант» и «производное» используются взаимозаменяемо и относятся к существующим в природе, синтетическим и полусинтетическим аналогам соединения, пептида, белка или другого вещества, описанного в данном документе. Вариант или производное соединения, пептида, белка или другого вещества, описанного в данном документе, может сохранять или улучшать биологическую активность исходного материала.

В рамках настоящего изобретения термин «вектор» включает в себя вектор нуклеиновой кислоты, такой как плазида, ДНК вектор, плазида, РНК вектор, вирус или другой подходящий репликон. Векторы экспрессии, описанные в данном документе, могут содержать полинуклеотидную последовательность, а также, например, дополнительные элементы последовательности, используемые для экспрессии белков и/или интеграции этих полинуклеотидных последовательностей в геном клетки млекопитающего. Некоторые векторы, которые можно использовать для экспрессии антител и фрагментов антител согласно изобретению, включают в себя плазмиды, которые содержат регуляторные последовательности, такие как промоторные и энхансерные области, которые направляют транскрипцию гена. Другие используемые векторы для экспрессии антител и фрагментов антител содержат полинуклеотидные последовательности, которые усиливают скорость трансляции этих генов или улучшают стабильность или ядерный экспорт иРНК, который является результатом транскрипции генов. Эти элементы последовательности могут содержать, например, 5' и 3' нетранслируемые области и участок сигнала полиаденилирования, чтобы направлять эффективную транскрипцию гена, переносимого вектором экспрессии. Векторы экспрессии, описанные в данном документе, также могут содержать полинуклеотид, кодирующий маркер для отбора клеток, которые содержат такой вектор. Примеры подходящего маркера включают гены, которые кодируют устойчивость к антибиотикам, таким как ампициллин, хлорамфеникол, канамицин и ноурсетрицин.

Термин «ацил» в рамках настоящего изобретения относится к $-C(=O)R$, где R представляет водород («альдегид»), алкил, алкенил, алкинил, карбоцикллил, арил, гетероарил или гетероцикллил согласно определению в данном документе.

Неограничивающие примеры включают формил, ацетил, пропаноил, бензоил и акрилоил.

В рамках настоящего изобретения термин «алкил» относится к алкильной группе с прямой или разветвленной цепью, имеющей, например, от 1 до 20 атомов углерода в цепи. Примеры алкильных групп включают метил, этил, n-пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, изопентил, трет-пентил, гексил, изогексил и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «алкилен» относится к двухвалентной алкильной группе с прямой или разветвленной цепью. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри алкильной цепи. Примеры алкилена включают метилен, этилен, пропилен, изопропилен и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «гетероалкил» относится к алкильной группе с прямой или разветвленной цепью, имеющей, например, от 1 до 20 атомов углерода в цепи, и кроме того, содержащей в цепи один или несколько гетероатомов (например, среди прочего, кислород, азот или серу).

В рамках настоящего изобретения термин «гетероалкилен» относится к двухвалентной гетероалкильной группе с прямой или разветвленной цепью. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри гетероалкильной цепи. Двухвалентные позиции могут быть на одном или нескольких гетероатомах.

В рамках настоящего изобретения термин «алкенил» относится к алкенильной группе с прямой или разветвленной цепью, имеющей, например, от 2 до 20 атомов углерода в цепи. Примеры алкенильных групп включают винил, пропенил, изопропенил, бутенил, трет-бутиленил, гексенил и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «алкенилен» относится к двухвалентной алкенильной группе с прямой или разветвленной цепью. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри алкенильной цепи. Примеры алкенилена включают этенилен, пропенилен, изопропенилен, бутенилен и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «гетероалкенил» относится к алкенильной группе с прямой или разветвленной цепью, имеющей, например, от 2 до 20 атомов углерода в цепи, и кроме того, содержащей в цепи один или несколько гетероатомов (например, среди прочего, кислород, азот или серу).

В рамках настоящего изобретения термин «гетероалкенилен» относится к двухвалентной гетероалкенильной группе с прямой или разветвленной цепью. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри гетероалкенильной цепи. Двухвалентные позиции могут быть на одном или нескольких гетероатомах.

В рамках настоящего изобретения термин «алкинил» относится к алкинильной группе с прямой или разветвленной цепью, имеющей, например, от 2 до 20 атомов углерода в цепи. Примеры алкинильных групп включают пропаргил, бутинил, пентинил, гексинил и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «алкинилен» относится к двухвалентной алкинильной группе с прямой или разветвленной цепью. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри алкинильной цепи.

В рамках настоящего изобретения термин «гетероалкинил» относится к алкинильной группе с прямой или разветвленной цепью, имеющей, например, от 2 до 20 атомов углерода в цепи, и кроме того, содержащей в цепи один или несколько гетероатомов (например, среди прочего, кислород, азот или серу).

В рамках настоящего изобретения термин «гетероалкинилен» относится к двухвалентной гетероалкинильной группе с прямой или разветвленной цепью. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри гетероалкинильной цепи. Двухвалентные позиции могут быть на одном или нескольких гетероатомах.

В рамках настоящего изобретения термин «циклоалкил» относится к моноциклической или слитой, мостиковой или спиро полициклической кольцевой структуре, которая является насыщенной и имеет, например, от 3 до 12 атомов углеродного кольца. Примеры циклоалкильных групп включают циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, бицикло[3,1,0]гексан и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «циклоалкилен» относится к двухвалентной циклоалкильной группе. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри кольцевой структуры. Примеры циклоалкилена включают циклопропилен, циклобутилен, цикlopентилен, циклогексилен и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «гетероциклоалкил» относится к моноциклической или слитой, мостиковой или спиро полициклической кольцевой структуре, которая является насыщенной и имеет, например, от 3 до 12 атомов кольца на кольцевую структуру, выбираемых из атомов углерода и гетероатомов, выбираемых, например, среди прочего, из азота, кислорода и серы. Кольцевая структура может содержать, например, одну или несколько оксогрупп на элементах углерода, азота или серы кольца. Примеры гетероциклоалкилов включают в качестве примера, а не ограничения, дигидроупиридил, тетрагидропиридил (пиперидил), тетрагидротиофенил, пиперидинил, 4-пиперидонил, пирролидинил, 2-пирролидонил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, бис-тетрагидропиранил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил, декагидрохинолинил, октагидроизохинолинил, пиперазинил, хинуклидинил и морфолинил.

В рамках настоящего изобретения термин «гетероциклоалкилен» относится к двухвалентной гетероциклоалкильной группе. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах внутри кольцевой структуры.

В рамках настоящего изобретения термин «арил» относится к моноциклической или мультициклической ароматической кольцевой системе, содержащей, например, от 6 до 19 атомов углерода. Арильные группы включают, но без ограничения, фенил, флуоренил,

нафтил и тому подобное. Двухвалентные позиции могут быть на одном или нескольких гетероатомах.

В рамках настоящего изобретения термин «арилен» относится к двухвалентной арильной группе. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах.

В рамках настоящего изобретения термин «гетероарил» относится к моноциклической гетероароматической или бициклической или трициклической конденсированной кольцевой гетероароматической группе, в которой один или несколько атомов кольца представляет гетероатом, например, азот, кислород или серу. Гетероарильные группы включают пиридил, пирролил, фурил, тиенил, имидазолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, изотиазолил, пиазолил, 1,2,3-триазолил, 1,2,4-триазолил, 1,2,3-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, 1,2,5-оксадиазолил, 1,3,4-оксадиазолил, 1,3,4-триазилил, 1,2,3-триазилил, бензофурил, [2,3-дигидро]бензофурил, изобензофурил, бензотиенил, бензотриазолил, изобензотиенил, индолил, изоиндолил, 3Н-индолил, бензимидазолил, имидазо[1,2-а]пиридил, бензотиазолил, бензоксазолил, хинолизилил, хиназолинил, фталазилил, хиноксалинил, циннолинил, наптиридилил, пиридо[3,4-*b*]пиридил, пиридо[3,2-*b*]пиридил, пиридо[4,3-*b*]пиридил, хинолил, изохинолил, тетразолил, 5,6,7,8-тетрагидрохинолил, 5,6,7,8-тетрагидроизохинолил, пуринил, птеридинил, карбазолил, ксантенил, бензохинолил и тому подобное.

В рамках настоящего изобретения термин «гетероарилен» относится к двухвалентной гетероарильной группе. Двухвалентные позиции могут быть на одном и том же или на разных атомах. Двухвалентные позиции могут быть на одном или нескольких гетероатомах.

Если иное не ограничено определением отдельного заместителя, вышеупомянутые химические фрагменты, такие как группы «алкил», «алкилен», «гетероалкил», «гетероалкилен», «алкенил», «алкенилен», «гетероалкенил», «гетероалкенилен», «алкинил», «алкинилен», «гетероалкинил», «гетероалкинилен», «циклоалкил», «циклоалкилен», «гетероциклоалкил», гетероциклоалкилен», «арил», «арилен», «гетероарил» и «гетероарилен» необязательно могут быть замещены, например, от 1 до 5 заместителями, выбираемыми из группы, состоящей из алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклоалкила, алкиларила, алкилгетероарила, алкилциклоалкила, алкилгетероциклоалкила, amino, аммония, ацила, ацилокси, ациламино, аминокарбонила, алкоксикарбонила, уреидо, карбамата, арила, гетероарила, сульфонила, сульфонила, алкокси, сульфонила, галогена, карбокси, тригалометила, циано, гидроксид, меркапто, нитро и тому подобное. Обычные заместители включают, но без ограничения, -X, -R, -OH, -OR, -SH, -SR, NH₂, -NHR, -N(R)₂, -N⁺(R)₃, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -NCO, -NCS, -NO, -NO₂, -N₃, -NC(=O)H, -NC(=O)R, -C(=O)H, -C(=O)R, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R)₂, -SO₃⁻, -SO₃H, -S(=O)₂R, -OS(=O)₂OR, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R)₂, -S(=O)R, -OP(=O)(OH)₂, -OP(=O)(OR)₂, -P(=O)(OR)₂, -PO₃, -PO₃H₂, -C(=O)X, -C(=S)R, -CO₂H, -CO₂R, -CO₂⁻, -C(=S)OR, -C(=O)SR, -C(=S)SR, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R)₂, -C(=S)NH₂, -C(=S)N(R)₂, -C(=NH)NH₂ и -C(=NR)N(R)₂;

где каждый X независимо выбирают для каждого случая из F, Cl, Br и I; и каждый R независимо выбирают для каждого случая из алкила, арила, гетероциклоалкила или гетероарила, защитной группы и фрагмента пролекарства. В тех случаях, когда группа описана, как «необязательно замещенная», эта группа может быть замещена одним или несколькими описанными выше заместителями, независимо для каждого случая. Замещение может включать ситуации, в которых соседние заместители подвергают замыканию кольца, такому как замыкание кольца вицинальных функциональных заместителей, с образованием, например, лактамов, лактонов, циклических ангидридов, ацеталей, полуацеталей, тиацеталей, аминалей и полуаминалей, образованных за счет замыкания кольца, например, для обеспечения защитной группы.

Должно быть понятно, что некоторые соглашения по названию радикалов могут включать либо монадикал или дирадикал, в зависимости от контекста. Например, когда для заместителя требуется две точки присоединения к остальной части молекулы, понятно, что заместитель представляет ди-радикал. Например, заместитель, идентифицированный как алкил, которому требуется две точки присоединения, содержит такие дирадикалы, как $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ и тому подобное. Другие соглашения по названию радикалов четко указывают, что радикал представляет дирадикал, такой как «алкилен», «алкенилен», «арилен», «гетероциклоалкилен» и тому подобное.

В тех случаях, когда заместитель представлен в виде дирадикала (то есть имеет две точки присоединения к остальной части молекулы), должно быть понятно, что, если не указано иное, заместитель может быть присоединен в любой направленной конфигурации.

Антитела против CD117

Настоящее изобретение частично основано на открытии новых антител против CD117 и их антигенсвязывающих участков, которые используют для терапевтических целей. Настоящее изобретение также частично основано на открытии, что антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, способные связывать CD117, такой как GNNK+ CD117, можно использовать в качестве отдельных терапевтических средств или в качестве ADC для (i) лечения рака (такого как острый мейлобластный лейкоз или миелодиспластический синдром) и аутоиммунных заболеваний, характеризующихся клетками CD117+, и (ii) содействия приживлению трансплантированных гемопоэтических стволовых клеток у пациента, нуждающегося в трансплантационной терапии. Эта терапевтическая активность может быть вызвана, например, за счет связывания антител против CD117 или их антигенсвязывающих фрагментов с CD117 (например, GNNK+ CD117), экспрессируемым на поверхности клетки, такой как раковая клетка, аутоиммунная клетка или гемопоэтическая стволовая клетка, и впоследствии индуцирования гибели клеток. Истощение эндогенных гемопоэтических стволовых клеток может обеспечить нишу, в которой трансплантированные гемопоэтические стволовые клетки могут находиться, а впоследствии создавать продуктивный гемопоэз. Таким образом, трансплантированные гемопоэтические стволовые клетки можно успешно пересаживать пациенту, например, пациенту-человеку с нарушением функции стволовых клеток, описанных в данном

документе.

Антитела и антигенсвязывающие фрагменты, способные связывать человеческий CD117 (также называемый c-Kit, эталонная последовательность иРНК NCBI: nM_000222.2, эталонная последовательность белка NCBI: NP_000213.1), включая те, что способны связывать GNNK+ CD117, можно использовать в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе, для подготовки пациента к трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками. Полиморфизмы, влияющие на кодирующую область или внеклеточный домен CD117 в значительной части популяции, в настоящее время не достаточно хорошо известны по неонкологическим показаниям. Было идентифицировано по меньшей мере четыре изоформы CD117 с потенциалом дополнительных изоформ, экспрессируемых в опухолевых клетках. Две изоформы CD117 расположены на внутриклеточном домене белка, а две находятся во внешней околочелюстной области. Две внеклеточные изоформы, GNNK+ и GNNK-, отличаются присутствием (GNNK+) или отсутствием (GNNK-) последовательности из 4 аминокислот. Сообщалось, что эти изоформы имеют одинаковую аффинность с лигандом (SCF), но сообщалось, что связывание лиганда с изоформой GNNK- увеличивает интернализацию и распад. Изоформу GNNK+ можно использовать в качестве иммуногена для генерирования антител, способных связывать CD117, так как антитела, создаваемые против этой изоформы, будут включать белки GNNK+ и GNNK-.

В раскрытии представлены новые антитела против CD117, аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей которых представлены в таблице 1, таблице 6, таблице 8 и таблице 16. В связи с этим в раскрытие включены конъюгаты антител против CD117-лекарственное средство, содержащие связывающие области (CDR или переменные области тяжелой и легкой цепей), которые представлены в SEQ ID NO:7-168. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11. В одном варианте

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:160, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:152. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:99. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:99. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:100. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:101. В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий участок содержит переменную область тяжелой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:98, и переменную область легкой цепи, которая представлена в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:102.

В одном варианте осуществления антителом является интактное антитело, содержащее переменные области тяжелых цепей и легких цепей, которые представлены в таблице 1. В одном варианте осуществления антитело против CD117 сконструировано так, чтобы иметь короткое время полураспада.

Таблица 1. Аминокислотные последовательности переменных областей тяжелых и легких цепей антител

Название антитела	Тип цепи	Аминокислотная последовательность
HC-1	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-1	hКаппа	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVSSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:8)
HC-2	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-2	hКаппа	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRTDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:9)
HC-3	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-3	hКаппа	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLAWYQQKPGKTP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:10)
HC-4	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-4	hКаппа	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVDIK (SEQ ID NO:11)

HC-5	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-5	hKanna	NIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAISDYLAWFQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QLNSYPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:12)
HC-6	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-6	hKanna	AIRMTQSPSSLSASVGDRVIIACRASQGIGGALAWYQQKPGNAP KVLVYDASTLES VPSRFSGGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QFNSYPLTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO:13)
HC-7	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-7	hKanna	DIAMTQSPPSLSAFVGDRVTITCRASQGISSLAWYQQKPGKAPK LLIYDASSLES VPSRFSGSGSGTDFTLTIRSLQPEDFATYYCQQF NSYPLTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO:14)
HC-8	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-8	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKAGKAP KVLISDASSLES VPSRFSGSGSGTDFTLSISLQPEDFATYYCQQ FNGYPLTFGGGGTKVDIK (SEQ ID NO:15)
HC-9	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)

LC-9	hKanna	AIRMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:16)
HC-10	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-10	hKanna	NIQMTQSPSSLSSTSVGDRVITITCRASQGIGTSLAWYQQKPGKPP KLLIYDASSLESGVPSRLSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SNSYPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:17)
HC-11	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-11	hKanna	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIGDYLTWYQQKPGKAP KVLIIYGASSLQSGVPPRFSGSGSGTDFTLTIVSSLQPEDFATYYCQ QLNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:18)
HC-12	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-12	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGVRSTLAWYQQKPGKAP KLLIYDASILESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ FNGYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:19)
HC-13	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-13	hKanna	DIVMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:20)

HC-14	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-14	hКаппа	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSFLAWYQQKPGKAPK LLIYDASTLQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQL NGYPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:21)
HC-15	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-15	hКаппа	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGIGPK LLIYDASTLES GVPARFSGSGSRTDFTLTITSLQPEDFATYYCQQF NGYPLTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO:22)
HC-16	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-16	hКаппа	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGITSALAWYQEKPGKAPN LLIYDASSLES GVPSPRFSGSGYGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQL NSYPLTFGGGGTKVDIK (SEQ ID NO:23)
HC-17	hIgG1	QIQLVQSGPELRKPGESVKISCKASGYTFTDYAMYWVKQAPGK GLKWMGWINTYTGKPTYADDFKGRFVFSLEASANTANLQISNL KNEDTATYFCARARGLVDDYVMDAWGQGT SVTVSS (SEQ ID NO:24)
LC-17	hЛямбда	SYELIQPPSASVTLGNTVSLTCVGDELSKRYAQWYQQKPKDKTIV SVIYKDSERPSGISDRFSGSSSGTTATLTIHGTLAEDEADYYCLST YSDDNLPVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:25)
HC-18	hIgG1	EVQLQQYGAELGKPGTSVRLSCKVSGYNIRNTYIHWVNQRPGE GLEWIGRIDPTNGNTISAEKFKTKATLTADTSSHTAYLQFSQLKS DDTAIFYCALNYEGYADYWGQGVMVTGSS (SEQ ID NO:26)
LC-18	hКаппа	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTINCKASQNINKYLNWYQQKVGEA PKRLIFKTNSLQTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISLQTEDVATYFCF QYNIGYTFGAGTKVELK (SEQ ID NO:27)

HC-19	hIgG1	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSNYRWNWIRKFPGN KVEWMGYINSAGSTNYPNPSLKSRI SMTRDTSKNQFFLQVNSVTT EDTATYYCARSLRGYITDYSGFFDYWGQGVMVTVSS (SEQ ID NO:28)
LC-19	hКаппа	DIRMTQSPASLSASLGETVNIECJA3ADIFSDLAWYQQKPGKSPQ LLIYNANSLQNGVPSRFSGSGSGTRYSLKINSLSQSEDVATYFCQQ YKNYPLTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:29)
HC-20	hIgG1	EVQLQQYGAELGKPGTSVRLSCKLSGYKIRNTYIHWVNQRPGK GLEWIGRIDPANGNTIYAEKFKSKVTLTADTSSNTAYMQLSQLK SDDTALYFCAMNYEGYEDYWGQGVMVTVSS (SEQ ID NO:30)
LC-20	hКаппа	DIQMTQSPSFLSASVGDSVTINCKASQNINKYLNWYQQKLGEAP KRLIHKTDLSLQTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCFQ YKSGFMFGAGTKLELK (SEQ ID NO:31)
HC-21	hIgG1	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAVYWVIQAPGKG LKWMGWINTYTGKPTYADDFKGRFVFSLETSASTANLQISNLK NEDTATYFCARGAGMTKDYVMDAWGRGVLVTVS (SEQ ID NO:32)
LC-21	hЛямбда	SYELIQPPSASVTLGNTVSLTCVGDELSKRYAQWYQQKPKDTIV SVIYKDSERPSDISDRFSGSSSGTTATLTIHGTLAEDEADYYCLST YSDDNLPVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:33)
HC-22	hIgG1	QVQLKESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFSLTSYLVHWVRQPPGKT LEWVGLMWNDGDTSYNSALKSRLSISRDTSKSQVFLKMHS LQA EDTATYYCARESNLGFYWGHTLVTVSS (SEQ ID NO:34)
LC-22	hКаппа	DIQMTQSPASLSASLEEIVTITCKASQGIDDDLSWYQQKPGKSPQ LLIYDVTRLADGVPSRFSGSRSGTQYSLKISRPQVADSGIYYCLQ SYSTPYTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:35)
HC-23	hIgG1	EVQLQQYGAELGKPGTSVRLSCKVSGYNIRNTYIHWVHQRPGE GLEWIGRIDPTNGNTISA EKFKSKATLTADTSSNTAYMQFSQLK SDDTAIYFCAMNYEGYADYWGQGVMVTVSS (SEQ ID NO:36)
LC-23	hКаппа	DIQMTQSPSFLSASVGDRLTINCKASQNINKYLNWYQQKLGEAP KRLIFKTNLSLQTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCFQ YNIGFTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:37)

HC-24	hIgG1	EVQLVESGGGLVQSGRSLKLSCAASGFTVSDYYMAWVRQAPT KGLEWVATINYDGSTTYHRDSVKGRFTISRDNASTЛИЛQMDLS LRSEDTATYYCARHGDYGYHYGAYYFDYWGGQGMVTVSS (SEQ ID NO:38)
LC-24	hКаппа	DIVLTQSPALAVSLGQRATISCRASQTVSLSGYNLIHWYQQRTG QQPKLLIYRASNLAPGIPARFSGSGSGTDFTLTISPVSDDIATYY CQQSRESWTFGGGTNLEMK (SEQ ID NO:39)
HC-25	hIgG1	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAIHWVKQAPGQG LRWMAWINTETGKPTYADDFKGRFVFSLEASASTAHLQISNLK NEDTATFFCAGGSHWFAYWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:40)
LC-25	hЛямбда	SYELIQPPSASVTLENTVSITCSGDELSNKYAHWYQQKPKDTILE VIYNDSEPSGISDRFSGSSSGTTAILTIRDAQAEDADYYCLSTF SDDDLPIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:41)
HC-26	hIgG1	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAVYWVIQAPGKG LKWMGWINTYTGKPTYADDFKGRFVFSLETSASTANLQISNLK NEDTATYFCARGAGMTKDYMMDAWGRGVLTVS (SEQ ID NO:32)
LC-26	hЛямбда	SYELIQPPSTSVTLGNTVSLTCVGNELPKRYAYWFQQKPDQSIV RLIYDDDRRPSGISDRFSGSSSGTTATLTIRDAQAEDAEAYYCHS TYTDDKVPIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:42)
HC-27	hIgG1	EVQLVESGGGLVQPGRSMKLSCKASGFTFSNYDMAWVRQAPT RGGLEWVASISYDGITAYYRDSVKGRFTISRDNASTЛИЛQLVSL RSEDTATYYCTTEGGYVYSGPHYFDYWGGQGMVTVSS (SEQ ID NO:43)
LC-27	hКаппа	DIQMTQSPSSMSVSLGDTVTITCRASQDVGFVNWFQQKPGRSP RRMIYRATNLADGVPSRFSGSRSGSDYSLTISSLESDVADYHCL QYDEFPRTFGGGTKELEK (SEQ ID NO:44)
HC-28	hIgG1	EVQLQQYGAELGKPGTSVRLSCKVSGYKIRNTYIHWVNQRPGK GLEWIGRIDPANGNTIYAEKFKSKVTLTADTSSNTAYMQLSQLK SDDTALYFCAMNYEGYEDYWGGQGMVTVSS (SEQ ID NO:45)
LC-28	hКаппа	DIQMTQSPSFLSASVGDSVTINCKASQNINKYLNWYQQKLGAP KRLIHKTNLQPGFSPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVAAYFCF QYNSGFTFGAGTKLELEK (SEQ ID NO:46)

HC-29	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYIHWVRQAPG QGLEWMGWMNPHSGDTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDТАVYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:47)
LC-29	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGNELGWYQQKPGKAP KLLIYAASNЛQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QYDNLPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:48)
HC-30	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYLHWVRQAPG QGLEWMGWINPNSGDTNYAQNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDТАVYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:49)
LC-30	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ LNGYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:50)
HC-31	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYLHWVRQAPG QGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDТАVYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:51)
LC-31	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASELETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ LNGYPITFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:52)
HC-32	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPG QGLEWMGWLNPSSGGTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDТАVYYCARHGRGYDGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:53)
LC-32	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QLNGYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:54)
HC-33	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMKLSS LRSEDТАVYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:55)

LC-33	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRDDL GWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QANGFPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:56)
HC-34	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGNTNYAQN FQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARHGRGYNAYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:57)
LC-34	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDL GWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QVNGYPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:58)
HC-35	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQ GLEWMGVINPTVGGANYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARHGRGYNEYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:59)
LC-35	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQDISDYL N WYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QGNSFPLTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO:60)
HC-36	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKLGASVKVSCKASGYTFSSYMH WVRQAPG QGLEWMGVINPNGAGTNFAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:61)
LC-36	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDL GWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ LNGYPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:50)
HC-37	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYMH WVRQAPG QGLEWMGWINPTGGGTNYAQN FQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:62)
LC-37	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDV SWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QLSGYPITFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:63)

HC-38	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPG QGLEWMGMINPSGGSTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDNAVYYCARHGRGYNDYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:64)
LC-38	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISDWLAWYQQKPGKAP KLLIYEASNLEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QANSFPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:65)
HC-39	hIgG1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSAYIHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDNAVYYCARHGRGYGGYEGAFDIWDQGTLLTVTVSSAS (SEQ ID NO:66)
LC-39	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDYVAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QLNGYPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:67)
HC-40	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTSYWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPDDSDTRYSPSFQGGQVTISVDKSNSTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:68)
LC-40	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTYFTLTISLQPEDFATYYCQ QGASFPITFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:69)
HC-41	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGSSFPNSWIAWVRQMPGK GLEWMGIIYPSDSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLEA SDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:70)
LC-41	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ LNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:71)
HC-42	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFDSYWIGWVRQMPGK GLEWMGIMYPGDSDDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNAYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:72)

LC-42	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSINNWLAWYQQKPGKAP KLLIYDAFILQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQ LNSYPLTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:73)
HC-43	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNWIWVRQMPGKG LEWMGIIYPGDSETRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKAS DTAMYYCARHGRGYGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:74)
LC-43	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGSDNLNWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QAISFPLTFGQGKVEIK (SEQ ID NO:75)
HC-44	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYNFTSYWIGWVRQMPGK GLEWMGVIYPDDSETRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:76)
LC-44	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASRDIRDDLWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QANSFPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:77)
HC-45	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFNTYIGWVRQMPGKG LEWMGIIYPGDSGTRYSPSFQGGQVTISADKAISTAYLQWSSLKAS DTAMYYCARHSRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:78)
LC-45	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QANSFPVTFGQGKVEIK (SEQ ID NO:79)
HC-46	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYNFTTYWIGWVRQMPGK GLEWMGIIHPADSDTRYNPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:80)
LC-46	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRVSQGISSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QANSFPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:81)

HC-47	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFSNYWIAWVRQMPGK GLEWMGIIYPDNSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYDGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:82)
LC-47	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRSDLAWYQQKPGKAP KLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ANSFPLSFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:83)
HC-48	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFASYWIGWVRQMPGK GLEWMGITYPGDSETRYNPSQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYGGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:84)
LC-48	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QANSFPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:85)
HC-49	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS (SEQ ID NO:86)
LC-49	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNWLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QTNSFPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:87)
HC-74	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-74	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:88)
HC-75	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)

LC-75	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:89)
HC-76	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-76	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:90)
HC-77	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-77	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAWYQQKPGKAP KLLIYDASILESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:91)
HC-78	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-78	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASILESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:92)
HC-79	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-79	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASILESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:93)

HC-80	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-80	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAP LLIYDASILESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQF NSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:94)
HC-81	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-81	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAWYQQKPGKAP KLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:95)
HC-82	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-82	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRALAWYQQKPGKAP KLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:96)
HC-83	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)
LC-83	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:97)
HC-84	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:7)

LC-84	hKanna	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:97)
HC-245	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:98)
LC-245	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNGYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:99)
HC-246	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGT MVT VSS (SEQ ID NO:7)
LC-246	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ FNGYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:99)
HC-247	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPG KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISAGKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGT MVT VSS (SEQ ID NO:7)
LC-247	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRGISDYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QANSFPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:100)
HC-248	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:98)
LC-248	hKanna	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ LNGYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:101)

HC-249	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:98)
LC-249	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QLNGYPLTFGQGTREIK (SEQ ID NO:102)

В таблице 2 представлены последовательности нуклеиновых кислот, соответствующие областям тяжелых и легких цепей некоторых последовательностей, описанных выше.

Таблица 2. Последовательности нуклеиновых кислот переменных областей тяжелых и легких цепей антител

HC-1	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG
------	-------	---

		TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-1	hKappa	GCCATTCAACTTACACAAAGTCCGAGTAGTCTCAGCGCGAG CGTCGGGGACCGGGTAACCATAACTTGCCGAGCCAGCCAGG GCGTCTCTAGCGCATTGGCATGGTATCAACAAAACCTGGA AAGGCTCCCAAGCTCCTCATTTACGATGCTAGCTCCCTTGAA TCTGGCGTACCATCCCGCTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGAAC AGACTTTACTCTTACAATATCATCCCTGCAACCAGAAGATTT TGCTACCTACTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCACTCAC ATTCGGCGGGGGTACGAAAGTAGAAATAAAGCGAACCGTG GCTGCGCCTAGCGTCTTTATCTTTCCCCGAGCGATGAACAG TTGAAATCAGGAACTGCTTCTGTGGTATGTTTGCTTAATAAT TTTTACCCACGGGAAGCAAAAGTGCAGTGGAAAGTAGACA ATGCGCTCCAGTCCGGCAATTCTCAAGAGAGTGTGACTGAA CAGGATTCTAAGGATAGCACTTATTCAGTGTCAAGTACCTT GACATTGTCAAAGGCGGACTATGAGAAACATAAGGTTTACG CCTGTGAGGTAACACACCAAGGGCTCAGCTCACCTGTTACG AAATCCTTCAATAGGGGCGAGTGT (SEQ ID NO:104)
HC-2	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT

		CAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAC CGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGC ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:105)
HC-3	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC

		CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-3	hKappa	GCCATCCGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGG GCATTAGAAATGATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG AAAACCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGA AAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGGACCG TGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAC CGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGC ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:106)
HC-4	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC

		CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-4	hKanna	GCCATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGG GCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAACAGAAACCAGGG AAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGA AAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCTG ACTTTCGGCGGAGGGACCAAAGTGGATATCAAACGGACCGT GGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGC AGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAAC AACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGA CAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACC

		GAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA CCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCG TGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:107)
HC-5	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGACACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGACACCCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG

		CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-5	hKanna	AACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCT GTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGC CATTAGCGATTATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAA ACAGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGAC AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT TTGCAACTTATTACTGTCAACAGCTTAATAGTTACCCCCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGGACCGT GGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGC AGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAAC AACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGA CAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACC GAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA CCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCG TGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:108)
HC-6	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG

		GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-6	hKanna	GCCATCCGGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTGGGGGACAGAGTCATTATCGCTTGCCGGGCAAGTCAGGG CATCGGCGGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA ATGCTCCTAAGGTCCTGGTCTATGATGCCTCCACTTTGGAAA GTGGGGTCCCATCACGGTTCAGCGGCGGTGGATCTGGGACA GATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTT GCAACTTACTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGACCGTGG CCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAA CTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACA ACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGA GCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACC CTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTG

		ACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:109)
HC-7	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTAACCCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)

LC-7	hKanna	GACATCGCGATGACCCAGTCTCCACCCTCCCTGTCTGCATT GTAGGGGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGG GCATTATCAGTTCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG AAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGA AAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCCGCAGCCTGCAGCCTGAAGAT TTTGCCACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGACCG TGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAC CGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGC ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:110)
HC-8	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG

		TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-8	hKappa	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCGTCT GTTGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGG CATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAGCAGGGA AAGCTCCTAAAGTCCTGATCTCTGATGCCTCCAGTTTGGA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGAC AGATTTCACTCTCAGCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT TTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATGGTTACCCGCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAAGTGGATATCAAACGGACCGTG GCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCG AGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCAC CCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGT GACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:111)
HC-9	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT

		CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGACACCCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-9	hKanna	GCCATCCGGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGG GCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG

		AAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGA AACAGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGA CAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGAT ATTGCAACATATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGACCG TGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAC CGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGC ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:112)
HC-10	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCGAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG

		GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-10	hKanna	AACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTACATCC GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGG GCATTGGCACTTCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGG AAGCCTCCTAAGTTACTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAA AGTGGGGTCCCATCAAGGCTCAGCGGCAGTGGATCTGGGAC AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT TTGCAACTTATTACTGTCAACAGTCTAATAGTTATCCGATCA CCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGGACCGTG GCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCG AGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCAC CCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGT GACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:113)
HC-11	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA

		CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGACACCCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-11	hKanna	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGA GCATTGGCGACTATTTGACTTGGTATCAGCAGAAACCAGGC AAAGCCCCTAAGGTCCTGATCTATGGTGCATCCAGTTTGCA AAGTGGGGTCCCACCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGTTCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCGTCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAT

		TTTGCAACTTATTACTGTCAACAGCTTAATAGTTACCCCCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGACCG TGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAG CAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAC CGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGC ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:114)
HC-12	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG

		CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-12	hKappa	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACGTGCCGGGCAAGTCAGG GCGTTAGGAGTACTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG AAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCATTTTGAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGAC AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT TTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATGGTTACCCTCTCA CCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGGACCGTG GCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCG AGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCAC CCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGT GACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:115)
HC-13	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT

		TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGACACCCTGCCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-13	hKanna	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGG GCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG AAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGA AAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGACCG TGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAG

		CAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAA CAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAC CGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGC ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:116)
HC-14	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC

		CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-14	hKappa	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGGG CATTAGCAGTTTTTTTAGCCTGGTATCAGCAAAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACTTTGCAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTGAGCGGCAGTGCATCTGGGAC AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT TTGCAACTTATTACTGTCAACAGCTTAATGGTTACCCTCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGGACCGT GGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGC AGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAAC AACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGA CAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACC GAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA CCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCG TGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:117)
HC-15	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC

		CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-15	hKanna	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGG GCATTGGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGG ATAGGTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCAACTTTGGAA AGTGGGGTCCCAGCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTAGGAC AGATTTCACTCTCACCATCACCAGCCTGCAGCCTGAAGATTT TGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATGGTTACCCTCTCAC TTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGACCGTG GCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCG

		AGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCAC CCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGT GACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:118)
HC-16	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGTGCGGCGGTGAAAAAC CTGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGCAAAGGCAGCGGCTAT CGTTTTACCACCTATTGGATTGGCTGGGTGCGTCAGATGCCG GGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCATTATCTATCCGGGCGA TAGCGATACCCGTTACAGCCCTAGCTTTCAGGGGCAGGTGA CCATTAGCGCGGGAAAAAGCATTAGCACCGCGTATCTGCAG TGGAGCAGCTTAAAAGCGAGCGACACCGCGATGTATTATTG CGCGCGTCATGGCCGTGGCTATAATGGCTATGAAGGCGCGT TTGATATTTGGGGCCAGGGGACTATGGTTACCGTGAGCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAG CAGCAAGAGCACCAAGCGGCGGAACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCTAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCTCCCTGCCCCGCCCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCAGCG TGTTCCCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCCGCACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGA GCAGTACAACCTCCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCG TGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAGCCTCAGG TGACACCCCTGCCCCCAGCCGCGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTC CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGG

		CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCC GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT GAGCCCCGGATAGTAA (SEQ ID NO:103)
LC-16	hКаппа	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGG GCATTACCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGGAGAAACCAGGG AAAGCTCCTAACCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATATGGGAC AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT TTGCAACTTATTACTGTCAACAGCTTAATAGTTACCCTCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAAGTGGATATCAAACGGACCGTG GCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCG AGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCAC CCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTG TACGCTTGCAGGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGT GACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA (SEQ ID NO:119)
HC-17	hIgG1	cagatccagttggtacagtctggacctgagctgaggaagcctggcgagtcagtgaagatctctgc aaggcttctggatataccttcacagactatgcaatgtattgggtgaaacaggctccaggaaagggctt gaagtggatgggctggatcaacacctatactgggaagccaacatatgctgatgacttcaaaggacg atttgtcttctcttggagcctctgccaacactgcaaatttcagatcagcaacctcaaaatgagga cacggctacatatttctgtgaagagcccgcgattagtcgatgactatgttatggatgcctggggctc aagggacttcagtcactgtctctct (SEQ ID NO:120)
LC-17	hЛямбда	agctatgagctgatccaaccaccttcggcatcagtcactctgggaatactgtctcactcacttgtgtc ggagatgaattatcaaaaagatatgctcagtggtatcaaaaaagccagacaagaccattgtgtccg tgatatacaagatagtgagcggccctcaggcatctctgaccgattctctggttcagctccgggac aacagccactctgacaatccatggcaccctggctgaggatgaggctgattattactgtttgtcaacat atagtgatgataatctccctgttttcgggtgggaaccaagctcactgtccta (SEQ ID NO:121)
HC-18	hIgG1	gaagtccagctgcagcagtatggggctgagcttgggaaacctgggacctcagtcaggttgcttgc aaggtttctggctataacattaggaatacctacattcactgggtgaatcagaggcctggagagggcc

		tggaatggataggaaggattgacacctacaaacggaaatactatatctgctgagaaattcaaaaccaa ggccacactgactgcagatacatcgctccacacagcctacttgcagttcagccaactgaaatctgac gacacagcaatctatTTTTGTGCTCTGAACTATGAGGGATATGCGGATTATGGGGCCAGGGAGTCAT GGTCACAGGCTCCTCC (SEQ ID NO:122)
LC-18	hKanna	gacatccagatgaccagctctccttcattctgtctgcatctgtgggagacagagtcactatcaactg caaagcaagtcagaatattaacaagtacttaaaactggatcagcaaaagggtggagaagctcccaaa cgctgatatttaagacaaacagtttgcaaacgggcatcccatcaagggtcagtggcagtgatctg gaacagattatacactcaccatcagcagcctgcagactgaagatgttgccacatacttctgcttcagt ataacattgggtacacgtttggagctgggaccaagggtggagctgaaa (SEQ ID NO:123)
HC-19	hIgG1	gaggtgcagcttcaggagtcaggacctggcctgtgaaacctcacagtcactctccctcacctgtt cggtcactggatactccatttcagtaattatagatggaaactggatccggaagtcccaggaaataaa gtggagtgatgggatataaaacagtgccagcagctactaactacaatccgtctctcaaaagtcgaa tctccatgactagagacacatccaagaatcagttcttctgcaggtgaactctgtaacaactgaggac acagccacttattactgtgcgagatccctaagagggtatattacggattattcaggcttcttgattactg gggccaaggagtcaggtcacagtctctca (SEQ ID NO:124)
LC-19	hKanna	gatatccgatgacacagctctccagcttccctgtctgcatctctgggagagactgtcaacatcgaatg tctagcaagtgaggacatttccagtgatttagcatggatcagcagaagccagggaatctcctcaac tcctgatctataatgcaaatagcttgcaaaatggggctcccttcacgggttagtggcagtgatctggca cacggtattctctcaaaataaacagcctgcaatctgaagatgtcgcgacttattctgtcaacaatataa gaattatccgctcacgttcgggtctgggaccaagctggagatcaaa (SEQ ID NO:125)
HC-20	hIgG1	gaagtcagctgcagcagtatggggctgagcttgggaaacctgggacctcagtcaggttcttgc aagcttctggctataagattaggaatacctacatacactgggtgaatcagaggcctggaaagggcc tggaatggattgggaggattgacctgcaaatggaaatactatctatgctgagaagttcaaaagcaa ggttacactgactgcagatacatcgctcaacacagcctacatgcaactcagccaactgaaatctgac gacacagcactctatTTTTGTGCTATGAACACGAAGGGTATGAGGATTACTGGGGCCAAGGAGTCAT GGTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:126)
LC-20	hKanna	gacatccagatgaccagctctccttcattctgtctgcatctgtgggagacagcgtcactatcaactg caaagcaagtcagaatattaacaagtacttaaaatggatcagcaaaagcttggagaagctcccaaa cgctgatacataaaacagacagctctgcaaacgggcatcccatcaagggtcagtggcagtgatct ggtagacattacacactcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgccacatacttctgcttca gtataagagtgggttcattgtttggagctgggaccaagctggaactgaaa (SEQ ID NO:127)
HC-21	hIgG1	cagatccagttggtacagctcggacctgagctgaagaagcctggagagtcagtgaagatctctgc aaggcctctgggtataccttcacagactatgcagtgactgggtgatacaggctccaggaaagggct tgaagtggatgggctggatcaacacctatactgggaagccaacatatgccgatgacttcaaaggac ggtttgtcttctcttggaaacctctgccagcactgcaaatttcagatcagcaacctcaaaaatgagg

		acacggctacatatatttctgtgcaagaggagcgggcatgactaaggactatgttatggatgcctggggtcgaggggttttagtcactgtctcctca (SEQ ID NO:128)
LC-21	hЛямбда	agctatgagctgatccaaccaccttcggcgctcagtcactctgggaaatactgtctcactcacttgtgtcggagatgaattatcaaaaagatatgctcagtggtatcaacaaaagccagacaagaccattgtgtccgtgatatacaaagatagtgagcggccctcagacatctctgaccgattctctggtccagctccgggacaacagccactctgacaatccatggcacccctggctgaggatgaggctgattattactgtttgtcaacatatagtgatgataatctccctgttttcgggtggtggaaccaagctcactgtccta (SEQ ID NO:129)
HC-22	hIgG1	cagggtgcagctgaaggagtcaggacctggcctgggtgcagccctcacagacctgtctctcacctgactgtctctggattctcattaaccagctatcttgttcactgggttcgacagcctccaggaaaaactctggagtgggtgggattaatgtggaatgatggagacacatcatataattcagctctcaaatcccgactgagcatcagcagggacacctcaagagccaagtttcttaaagatgcacagctctcaagctgaggacacagccacttactactgtgccagagagagcaactgggatttacttactggggccacggcactctggtea ctgtctctca (SEQ ID NO:130)
LC-22	hКаппа	gacatccagatgacacagtcctctgcctccctgtctgcttctctggaagaaattgtcaccatcacctgc aaggcaagccagggcattgatgatgacttatcatgggtatcagcagaaaccaggggaaatctcctcag ctctgatctatgatgtaaccagattggcagatgggtcccatcacgggtcagcggcagtagatctg gcacacagtattctctaagatcagcagaccacagggtgctgattctggaatctattactgtctgcaga gttacagtactccgtacacgtttggagctgggaccaagctggaactgaaa (SEQ ID NO:131)
HC-23	hIgG1	gaagtccagctgcagcagtatggggctgagcttgggaaacctgggacctcagtcaggttcttgc aagggttctggctataacattaggaatacctacattcactgggtgcatcagaggcctggagagggcc tggaatggataggaaggattgatcctacaaacggaaatactatatctgctgagaagtcaaaagcaa ggccacactgactgcagatacatcgtccaatacagcctacatgcagttcagccaactgaaatctgac gacacagcaatctattttgtgctatgaactacgaagggtatgcggattattggggccaaggagtcat ggtcacagtctcctcc (SEQ ID NO:132)
LC-23	hКаппа	gacatccagatgaccagtcctctcattcctgtctgcatctgtgggagacagactcactatcaactgc aaagcaagtcagaatattaacaagtacttaactgggtatcagcaaaagcttgagaagctcccaaac gcctgatatttaagacaaacagtttgcaaacgggcatcccatcaagggtcagtggcagtggtctgg aacagattacacactcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgtgccacatatttctgctttcagta taacattgggttcacgtttggagctgggaccaagctggagctgaaa (SEQ ID NO:133)
HC-24	hIgG1	gagggtgcagctgggtggagtctggtggaggcttagtcagctctggaaggctcctaaaactctcctgtg cagcctcaggattcactgtcagtgactattacatggcctgggtccgccaggctccaacgaaggggc tggagtgggtcgcaaccattaattatgatggtagtaccacttaccatcgagactccgtgaagggccg attcactatctccagggataatgcaaaaagcacccctatacctgcaaatggacagctctgcggtctgag

		gacacggccacttattactgtgcaagacatggggactatgggtatcactacggggcctattattttgat tactggggccaaggagtcaggtcacagtctcctca (SEQ ID NO:134)
LC-24	hКаппа	gacattgtcttgaccagtctcctgctttggctgtgtctctggggcagagggccactatctcctgtagg gccagccagactgtcagtttatctggatataatcttatacactgggtaccaacagagaacaggacagc aacccaaactcctcatctatctgtgcatccaatctagcacctgggatccctgccaggtcagtggcagt gggtctgggacagacttcaccctaccatcagccctgtgcagtctgatgatattgcaacctattactgt cagcagagtagggagtcgtggacgttcggtggaggaccaactggaaatgaag (SEQ ID NO:135)
HC-25	hIgG1	cagatccagttggtacagtctggacctgagctgaagaagcctggagagtcagtgaagatctcctgc aaggcttctgggtataccttcacagactatgcaatacactgggtgaaacaggctccaggacagggc ttgaggtggatggcctggatcaacaccgaaactgggaagcctacatatgctgatgacttcaaagga cggtttcttctctttggaggcctctgccagcactgcacatttcagatcagcaacctcaaaatgag gacacggctacattttctgtgcaggcgggtccattggtttgcttactggggccaaggcactctggt cactgtctctca (SEQ ID NO:136)
LC-25	hЛямбда	agctatgagctgatccaaccacctcagcatctgtcactctggaaaactgtctcaatcacttgttctg gagatgaattatcaaaaaatgctcatttggtatcaaaaaagccagacaagaccattttggaagtg atctacaacgatagtgagcggccctcaggcatctctgaccgattctctgggtccagctcagggacaa cagccattctcacaatccgtgatgccaggctgaggatgaggctgattattactgtttgtcaacattta gtgatgatgatctccctattttcggtggtggcaccaagctcactgtccta (SEQ ID NO:137)
HC-26	hIgG1	cagatccagttggtacagtctggacctgagctgaagaagcctggagagtcagtgaagatctcctgc aaggcctctgggtataccttcacagactatgcagtgtactgggtgatacaggctccaggaaagggct tgaagtggatgggctggatcaacacctatactgggaagccaacatatgccgatgacttcaaaggac ggtttcttctctttgaaacctctgccagcactgcaaatttcagatcagcaacctcaaaatgagg acacggctacataatttctgtgcaagaggagcgggcatgactaaggactatgttatggatgcctgggg tcgaggggttttagtcactgtctcctca (SEQ ID NO:128)
LC-26	hЛямбда	agctatgagctgatccaaccacctcaacatcagtcactctgggaaactgtctcactcacctgtgtt ggaaatgaattacaaaaagatatgcttattggttcaaaaaagccagaccagtcattgtgagact gatatatgacgatgacaggcggccctcaggcatctctgaccgattctctgggtccagctctgggaca acagccactctgacaatccgtgacgcccaggctgaggatgaggcttattattactgtcactcaacata tactgatgataaagtcctattttcggtggtggaaccaagctcactgtccta (SEQ ID NO:138)
HC-27	hIgG1	gaggtgcagctgggtggagtctgggggaggcttagtgagcctggaaggtccatgaaactctcctgt aaggcctcaggattcactttcagtaactatgacatggcctgggtccgccaggctccaacgaggggt ctggagtgggtcgcatccattagttatgatggtattaccgcttactatcgagactccgtgaagggccg attcactatctccagagagaatgcaaaaagcaccctatacctgcaattgggtcagctctgagatctgagg

		acacggccacttattactgtacaacagaggggggttatgtgtactccgaccacactactttgattact ggggccaaggagtcaggtcacagtctctca (SEQ ID NO:139)
LC-27	hКаппа	gacattcagatgaccagtcctccatcctcatgtctgtctctgggagacacagtcactattacttgc cgggcaagtcaggacgttgggattttgtaaattgggtccagcagaaaccagggagatctcctaggc gtatgattatcgtgcaacgaacttggcagatgggggccatcaagggtcagcggcagtaggtctgg atcagattattctctcaccatcagcagcctggagtctgaagatgtggcagactatcactgtctacagta tgatgagtttctcggacgttcggtggaggaccaagctggaattgaaa (SEQ ID NO:140)
HC-28	hIgG1	gaagtcagctgcagcagtatggggctgagcttgggaaacctgggacctcagtcaggttcttgc aaggtttctggctataagattaggaatacctacatacactgggtgaatcagaggcctggaaagggcc tggaatggataggaggattgacctgcaaatggaatactatatatgctgagaagtcaaaagcaa ggttacactgactgcagatacatcgtccaacacagcctacatgcaactcagccaactgaaatctgac gacacagcactctattttgtgctatgaactacgaagggtatgaggattactggggccaaggagtc ggtcacagtctctca (SEQ ID NO:141)
LC-28	hКаппа	gacatccagatgaccagtcctcctcattctgtctgcatctgtgggagacagcgtcactatcaactg caaagcaagtcagaatattaataagtatttaaactgggtatcagcaaaagcttggaagaagctcccaaac gcctgatacataaaacaacagtttgcaaccgggcttcccatcaagggtcagtggcagtgatctgg tacagattacacactcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttgcgcataattctgctttagta taacagtggttcacgttggagctgggaccaagctggaactgaaa (SEQ ID NO:142)

Как описано ниже, провели scFV фаговый дисплей библиотека скрининг человеческих антител для идентификации новых антител против CD117 и их фрагментов, имеющих терапевтическое применение. Среди прочего, в этом скрининге идентифицировали антитела 85 (Ab85), 86 (Ab86), 87 (Ab87), 88 (Ab88) и 89 (Ab89).

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab85 представлена ниже в виде SEQ ID NO:143. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab85 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IINPRDSDTRYRPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:146); и HGRGYEGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:147).

Последовательность VH Ab85

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPR
DSDTRYRPSFQGVTVISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDI
WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:143)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab85 представлена ниже в виде SEQ ID NO 144. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab85 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RSSQGIRSDLG (VL CDR1; SEQ ID NO:148); DASNLET (VL CDR2; SEQ ID NO:149); и QQANGFPLT (VL CDR3; SEQ ID NO:150).

Последовательность VL Ab85

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQGIRSDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASNLET
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID
NO:144)

Антитело HC-86/LC-86 (Ab86)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab86 представлена ниже в виде SEQ ID NO:151. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab86 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IIYPGDSDIRYSPSLQG (VH CDR2; SEQ ID NO:153); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab86

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG
DSDIRYSPSLQGQVTISVDTSTSTAYLQWNSLKPSDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDI
WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:151)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab86 представлена ниже в виде SEQ ID NO 152. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab86 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIGDSL (VL CDR1; SEQ ID NO:154); DASNLET (VL CDR2; SEQ ID NO:149); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab86

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDSLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE
TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:152)

Антитело HC-87/LC-87 (Ab87)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab87 представлена ниже в виде SEQ ID NO:143. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab87 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IINPRDS TRYRPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:146); и HGRGYEGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:147).

Последовательность VH Ab87

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPR
DSDTRYRPSFQGVVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHHGRGYEGYEGAFDI
WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:143)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab87 представлена ниже в виде SEQ ID NO 156. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab87 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIRNDLG (VL CDR1; SEQ ID NO:157); DASSLES (VL CDR2; SEQ ID NO:5); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab87

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASSLE
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTKVEIK (SEQ ID

NO:156)

Антитело HC-88/LC-88 (Ab88)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab88 представлена ниже в виде SEQ ID NO:158. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab88 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IIYPGDSLTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:159); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab88

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG
DSLTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIW
GQGTLTVVSS (SEQ ID NO:158)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab88 представлена ниже в виде SEQ ID NO:156. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab88 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIRNDLG (VL CDR1; SEQ ID NO:157); DASSLES (VL CDR2; SEQ ID NO:5); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab88

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASSLE
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:156)

Антитело HC-89/LC-89 (Ab89)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab89 представлена ниже в виде SEQ ID NO:160. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab89 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IIYPGDS DTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:2); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab89

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG
DSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDI
WGQGTLTVVSS (SEQ ID NO:160)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab89 представлена ниже в виде SEQ ID NO:152. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab89 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIGDSL (VL CDR1; SEQ ID NO:154); DASNLET (VL CDR2; SEQ ID NO:149); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab89

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDSLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE
TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:152)

Антитело HC-249/LC-249 (Ab249)

Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи (VH) Ab249 представлена ниже в виде SEQ ID NO:98. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab249 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: TSWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:186); IIYPGDS DTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:2); и HGLGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:187).

Последовательность VH Ab249

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTTSWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG
DSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDI
 WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:98)

Аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи (VL) Ab249 представлена ниже в виде SEQ ID NO:102. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab249 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIGSALA (VL CDR1; SEQ ID NO:188); DASNLET (VL CDR2; SEQ ID NO:149); и QQLNGYPLT (VL CDR3; SEQ ID NO:189).

Последовательность VL Ab249

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE
TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGQGTRLLEIK (SEQ ID
 NO:102)

Человеческие антитела Ab85 и Ab249 были получены из антитела CK6, которое является антагонистом антитела против CD117. Сравнение аминокислотных последовательностей варибельных областей Ab85 и Ab249 с CK6 показано на фиг. 11A-11D (где также обозначены CDR). Оба антитела имеют улучшенные свойства, например, улучшенные характеристики связывания, по сравнению с CK6.

CK6 содержит участок потенциального деамидирования в домене CDR3 варибельной области тяжелой цепи. Хотя для будущего получения антитела его предпочтительно удалить, позиция аспарагина представляет значительную проблему. Однако, в CDR3 тяжелой цепи Ab85 участок потенциального деамидирования был успешно удален, так что антитело (имеющее CDR тяжелой и легкой цепей Ab85) было способно сохранять специфичность высокого уровня аффинности к человеческому CD117 и способность интернализации. Кроме того, Ab85 имеет улучшенную скорость диссоциации относительно своего родителя.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело против CD117 содержит тяжелую цепь, содержащую набор CDR (CDR1, CDR2 и CDR3), которые представлены в SEQ ID NO:145, 146 и 147, и легкую цепь, содержащую набор CDR, которые представлены в SEQ ID NO:148, 149 и 150, интернализируется клетками, экспрессирующими CD117, и имеет показатель $k_{off} 5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ или менее при измерении с помощью BLI.

Как описано в Jain et al. (2017) PNAS 114 (5) 944-949, хотя активность антитела имеет особенное значение для его разработки в качестве терапевтического средства, «возможность разработки» антитела для получения часто упускают из виду.

Идентификация антитела, которое может получить как терапевтические, так и превосходные биофизические характеристики, является сложной проблемой. На самом деле, биофизические свойства антитела особенно важны для антитела, используемого для терапевтических целей. Биофизическое тестирование Ab85 показало, что оно представляет собой особенно стабильное антитело. Например, популяция антител Ab85 с течением времени сохраняет низкий уровень кислых вариантов даже при повышенных температурах (см. Фиг. 13А и 13В). Это было справедливо даже в отношении других полученных из СК6 антител. В связи с этим в некоторых вариантах осуществления в изобретение включена композиция, содержащая менее чем 20% кислых вариантов при определении с помощью капиллярного электрофореза после хранения при 25 градусах по Цельсию в течение семи дней, где антитело представляет собой IgG антитело, которое специфически связывается с CD117 и содержит тяжелую цепь, содержащую набор CDR (CDR1, CDR2 и CDR3), которые представлены в SEQ ID NO:145, 146 и 147, и легкую цепь, содержащую набор CDR, которые представлены в SEQ ID NO:148, 149 и 150.

Антитела против CD117 или связывающие фрагменты, описанные в данном документе, могут также включать модификации и/или мутации, которые изменяют свойства антител и/или фрагментов, такие как свойства, которые увеличивают время полураспада, увеличивают или снижают ADCC и т.д., как известно в данной области.

В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его связывающий фрагмент содержит вариантную область Fc, при этом указанная вариантная область Fc содержит по меньшей мере одну аминокислотную модификацию относительно области Fc дикого типа, так что указанная молекула имеет измененную аффинность с FcγR. Некоторые позиции аминокислот внутри области Fc, как известно из кристаллографических исследований обеспечивают прямой контакт с FcγR. В частности, аминокислоты 234-239 (шарнирная область), аминокислоты 265-269 (петля В/С), аминокислоты 297-299 (петля С'/Е) и аминокислоты 327-332 (петля F/G). (См. Sondermann et al. 2000 Nature, 406: 267-273). Например, аминокислотные замены в позициях аминокислот 234 и 235 области Fc идентифицировали как уменьшение аффинности IgG антитела для связывания с рецептором Fc, особенно с рецептором Fc гамма (FcγR). В одном варианте осуществления антитело против CD117, описанное в данном документе, содержит область Fc, содержащую аминокислотную замену в L234 и/или L235, например, L234A и L235A (индекс ЕС). Таким образом, антитела против CD117, описанные в данном документе, могут содержать вариантные области Fc, содержащие модификацию по меньшей мере одного остатка, который обеспечивает прямой контакт с FcγR на основании структурного и кристаллографического анализа. В одном варианте осуществления область Fc антитела против CD117 (или его содержащего Fc фрагмента) содержит аминокислотную замену в аминокислоте 265 согласно индексу ЕС, как в Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, MD (1991), явным образом включено в данный документ посредством ссылок. «Индекс ЕС, как в Kabat» или «Индекс ЕС» относится к нумерации ЕС человеческого IgG1 антитела и, если не указано иное,

используется в данном документе в ссылке на позиции аминокислот Fc.

В одном варианте осуществления область Fc содержит мутацию D265A. В одном варианте осуществления область Fc содержит мутацию D265C.

В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела против CD117 (или его фрагмента) содержит аминокислотную замену в аминокислоте 234 согласно индексу ЕС как в Kabat. В одном варианте осуществления область Fc содержит мутацию L234A. В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела против CD117 (или его фрагмента) содержит аминокислотную замену в аминокислоте 235 согласно индексу ЕС как в Kabat. В одном варианте осуществления область Fc содержит мутацию L235A. В еще одном варианте осуществления область Fc содержит мутацию L234A и L235A. В дополнительном варианте осуществления область Fc содержит мутацию D265C, L234A и L235A.

В некоторых аспектах вариантный домен Fc IgG содержит одну или несколько аминокислотных замен, приводящих к снижению или уменьшению аффинности связывания для FcгаммаR и/или C1q по сравнению с доменом Fc дикого типа, не содержащим одну или несколько аминокислотных замен. Взаимодействия со связыванием Fc важны для множества эффекторных функций и событий передачи нисходящих сигналов, включая, но без ограничения, антителозависимую опосредованную клетками цитотоксичность (ADCC) и комплементзависимую цитотоксичность (CDC). Соответственно, в некоторых аспектах антитело, содержащее модифицированную область Fc (например, содержащее мутацию L234A, L235A и D265C) существенно снижает или отменяет эффекторные функции.

Аффинность с областью Fc можно определять с использованием множества методик, известных в данной области, например, но без ограничения, методов равновесия (например, ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA); KinExA, Rathanaswami et al. Аналитических Biochemistry, Vol. 373:52-60, 2008; или радиоиммуноанализа (RIA)) или с помощью анализа на основе поверхностного плазмонного резонанса или другого механизма анализа на основе кинетики (например, анализ BIACORE™ или анализа Octet™ (forteBIO)) и других методов, таких как непрямые анализы связывания, анализы конкурентного связывания с резонансным переносом энергии флуоресценции (FRET), гель-электрофорез и хроматография (например, гель-фильтрация). В этих и других методах можно использовать метку на одном или нескольких исследуемых компонентах и/или задействовать множество методов обнаружения, включая, но без ограничения, хромогенные, флуоресцентные, люминесцентные или изотопные метки. Подробное описание аффинности и кинетики связывания можно найти в Paul, W. E. ed. Fundamental Immunology, 4th Ed. Lippincott-Raven, Philadelphia (1999), которая сосредоточена на взаимодействиях антитело-иммуноген. Одним примером анализа конкурентного связывания является радиоиммуноанализ, включающий инкубацию меченого антигена с интересующим антителом в присутствии увеличивающегося количества немеченого антигена и обнаружения антитела, связанного с меченым антигеном. Аффинность

интересующего антитела с конкретным антигеном и скорости диссоциации при связывании можно определять из данных с помощью анализа графика Скэтчарда. Конкуренцию со вторым антителом также можно определять с использованием радиоиммуноанализов. В этом случае антиген инкубируют с интересующим антителом, конъюгированным с меченым соединением в присутствии увеличивающегося количества немеченого второго антитела.

В одном варианте осуществления антитело против CD117, описанное в данном документе, содержит область Fc, содержащую L235A, L235A и D265C (индекс ЕС). Кроме того, антитела согласно изобретению можно сконструировать с дополнительной модуляцией времени полураспада антитела путем введения дополнительных мутаций Fc, таких как мутации, описанные, например, в (Dall'Acqua et al. (2006) *J Biol Chem* 281: 23514-24), (Zalevsky et al. (2010) *Nat Biotechnol* 28: 157-9), (Hinton et al. (2004) *J Biol Chem* 279: 6213-6), (Hinton et al. (2006) *J Immunol* 176: 346-56), (Shields et al. (2001) *J Biol Chem* 276: 6591-604), (Petkova et al. (2006) *Int Immunol* 18: 1759-69), (Datta-Mannan et al. (2007) *Drug Metab Dispos* 35: 86-94), (Vaccaro et al. (2005) *Nat Biotechnol* 23: 1283-8), (Yeung et al. (2010) *Cancer Res* 70: 3269-77) и (Kim et al. (1999) *Eur J Immunol* 29: 2819-25) и включением позиций 250, 252, 253, 254, 256, 257, 307, 376, 380, 428, 434 и 435. Иллюстративными мутациями, которые можно получить отдельно или в комбинации, являются мутации T250Q, M252Y, I253A, S254T, T256E, P257I, T307A, D376V, E380A, M428L, H433K, N434S, N434A, N434H, N434F, H435A и H435R.

Таким образом, в одном варианте осуществления область Fc содержит мутацию, которая приводит к снижению времени полураспада. Антитело, имеющее короткое время полураспада, может быть предпочтительным в некоторых случаях, когда ожидается, что антитело будет функционировать в качестве терапевтического средства с коротким временем полураспада, например, на этапе подготовки, описанном в данном документе, когда антитело вводят с последующими HSC. В идеале, антитело следовало бы по существу удалить перед доставкой HSC, которые также обычно экспрессируют CD117, но не являются мишенью для антитела против CD117, в отличие от эндогенных стволовых клеток. В одном варианте осуществления область Fc содержит мутацию в позиции 435 (индекс ЕС согласно Kabat). В одном варианте осуществления мутацией является мутация H435A.

В одном варианте осуществления антитело против CD117, описанное в данном документе, имеет время полураспада, равное или меньше чем 24 часа, равное или меньше чем 22 часа, равное или меньше чем 20 часов, равное или меньше чем 18 часов, равное или меньше чем 16 часов, равное или меньше чем 14 часов, равное или меньше чем 13 часов, равное или меньше чем 12 часов или равное или меньше чем 11 часов. В одном варианте осуществления время полураспада антитела составляет от 11 часов до 24 часов; от 12 часов до 22 часов; от 10 часов до 20 часов; от 8 часов до 18 часов; или от 14 часов до 24 часов.

Антитела против CD117, которые можно использовать в сочетании со способами подготовки пациента, описанными в данном документе, включают, например, антитела,

продуцируемые и высвобождаемые из ATCC регистрационный № 10716 (депонированные как BA7.3C.9), такие как антитело SR-1, которое описано, например, в патенте США № 5489516, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к антителам против CD117.

В одном варианте осуществления антитело против CD117, описанное в данном документе, содержит область Fc, содержащую L235A, L235A, D265C и H435A (индекс EC).

Дополнительные антитела против CD117, которые можно использовать в сочетании со способами подготовки пациента, описанными в данном документе, включают антитела, описанные в патенте США № 7915391, в котором описаны, например, гуманизированные антитела SR-1; в патенте США № 5808002, в котором описаны, например, антитела против CD117 A3C6E2, а также антитела, описанные, например, в WO 2015/050959, в котором описаны антитела против CD117, которые связывают эпитопы, содержащие Pro317, Asn320, Glu329, Val331, Asp332, Lus358, Glue360, Glue376, His378 и/или Thr380 человеческого CD117; и в US 2012/0288506 (также опубликован как патент США № 8552157), в котором описано, например, антитело СК6 против CD117, имеющее последовательности CDR:

CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SYWIG (SEQ ID NO:1);

CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность IIYPGDSSDTRYSPSFQG (SEQ ID NO:2);

CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность HGRGYNGYEGAFDI (SEQ ID NO:3);

CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность RASQGISSALA (SEQ ID NO:4);

CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность DASSLES (SEQ ID NO:5);

и

CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность CQQFNSYPLT (SEQ ID NO:6).

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи СК6 представлена в SEQ ID NO:161):

QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFT**SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYP**
GDS**SDTRYSPSFQ****Q****VTI**
SAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR**HGRGYNGYEGAFDI**WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:161; CDR подчеркнуты и выделены жирным шрифтом).

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи СК6 представлена в SEQ ID NO:162:

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQGISSALA**WYQQKPGKAPKLLIY**DASSLES**
GVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYY**CQQFNSYPLT**FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:162; CDR подчеркнуты и выделены жирным шрифтом).

Дополнительные антитела против CD117 и их антигенсвязывающие фрагменты, которые можно использовать в сочетании с композициями и способами, описанными в

данном документе, включают антитела, описанные в US 2015/0320880, такие как клоны 9P3, NEG024, NEG027, NEG085, NEG086 и 20376.

Раскрытие каждой из вышеупомянутых публикаций включено в данный документ посредством ссылки, так как они относятся к антителам против CD117. Антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые можно использовать в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе, включают описанные выше антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, а также гуманизированные варианты тех не человеческих антител и антигенсвязывающих фрагментов, которые описаны выше, и антител или антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают тот же эпитоп, что и описанные выше эпитопы, при оценке, например, с помощью анализа конкурентного связывания CD117.

Иллюстративные антигенсвязывающие фрагменты вышеупомянутых антител включают в себя, среди прочего, двойной вариабельный домен иммуноглобулина, одноцепочечную молекулу Fv (scFv), диатело, триатело, нанотело, антителоподобный белковый каркас, фрагмент Fv, фрагмент Fab, молекулу F(ab')₂ и тандемный di-scFv.

Антитела можно получать с использованием рекомбинантных методов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В одном варианте осуществления представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело против CD117, описанное в данном документе. Такая нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела (например, легкой и/или тяжелой цепей антитела). В дополнительном варианте осуществления представлены один или несколько векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такую нуклеиновую кислоту. В дополнительном варианте осуществления представлена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В одном таком варианте осуществления клетка-хозяин содержит (например, трансформирована с помощью): (1) вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела, или (2) первого вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и второго вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела. В одном варианте осуществления клеткой-хозяином является эукариотическая клетка, например, яичника китайского хомячка (CHO) или лимфоидная клетка (например, клетка Y0, NS0, Sp20). В одном варианте осуществления представлен способ получения антитела против CLL-1, где способ включает культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, которое представлено выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и необязательно извлечение антитела из клетки-хозяина (или среды для культивирования клеток-хозяев).

Для рекомбинантного получения антитела против CD117, нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, например, которое описано выше, выделяют и встраивают в один

или несколько векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту можно легко выделять и секвенировать с использованием обычных методов (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи антитела).

Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии кодирующих антитела векторов включают прокариотические или эукариотические клетки, описанные в данном документе. Например, антитела можно получать в бактериях, в частности, когда не нужны гликозилирование и Fc эффекторная функция. Для экспрессии фрагментов и полипептидов антител в бактериях, см., например, патенты США №№ 5648237, 5789199 и 5840523. (См. Также Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp. 245-254, описывающие экспрессию фрагментов антител в *E. coli*.) После экспрессии антитела можно выделить из массы бактериальных клеток в растворимой фракции и можно дополнительно очистить.

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

В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменные области, имеющие аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, 96%, 97% или 99% идентична SEQ ID No, раскрытым в данном документе. Альтернативно, антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR, содержащие SEQ ID No, раскрытые в данном документе, с каркасными областями переменных областей, описанных в данном документе, имеющими аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, 96%, 97% или 99% идентична SEQ ID No, раскрытым в данном

документе.

В одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, которая раскрыта в данном документе. В другом варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область легкой цепи и константную область легкой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, которая раскрыта в данном документе. В еще одном варианте осуществления антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, переменную область легкой цепи, константную область тяжелой цепи и константную область легкой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, которая раскрыта в данном документе.

Способы идентификации Антител против CD117

Для идентификации и аффинности зрелых антител, используемых для лечения рака, аутоиммунных заболеваний и подготовки пациента (например, пациента-человека), нуждающегося в терапии гемопоэтическими стволовыми клетками, как описано в данном документе, можно использовать способы высокопроизводительного скрининга антител или фрагментов антител, библиотеки для молекул, способных связывать CD117 (например, GNNK+ CD117). Такие способы, среди прочего, включают дисплейные методы *in vitro*, известные в данной области, такие как фаговый дисплей, бактериальный дисплей, дрожжевой дисплей, дисплей на клетках млекопитающих, рибосомный дисплей, иРНК дисплей и кДНК дисплей. Использование фагового дисплея для выделения лигандов, которые связывают биологически соответствующие молекулы, рассмотрено, например, в Felici et al. *Biotechnol. Annual Rev.* 1:149-183, 1995; Katz, *Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:27-45, 1997; и Hoogenboom et al. *Immunotechnology* 4:1-20, 1998, раскрытие каждого из которых включено в данный документ посредством ссылки, так как они относятся к дисплейным методам *in vitro*. Были созданы рандомизированные комбинаторные пептидные библиотеки для отбора полипептидов, которые связывают антигены клеточной поверхности, как описано в Kay, *Perspect. Drug Discovery Des.* 2:251-268, 1995 и Kay et al., *Mol. Divers.* 1:139-140, 1996, раскрытие каждого из которых включено в данный документ посредством ссылки, так как они относятся к поиску антигенсвязывающих молекул. Белки, такие как мультимерные белки, были успешно отобраны методом фагового дисплея в качестве функциональных молекул (см., например, EP 0349578; EP 4527839; и EP 0589877, а также Chiswell и McCafferty, *Trends Biotechnol.* 10:80-84 1992, раскрытие каждого из которых включено в данный документ посредством ссылки, так как они относятся к использованию дисплейных методов *in vitro* для поиска антигенсвязывающих молекул). Кроме того, функциональные фрагменты антител, такие как Fab и фрагменты scFv, были экспрессированы в форматах дисплея *in vitro* (см., например, McCafferty et al. *Nature* 348:552-554, 1990; Barbas et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982, 1991; и Clackson et al. *Nature* 352:624-628, 1991, раскрытие каждого из которых включено в данный документ

посредством ссылки, так как они относятся к платформам дисплея *in vitro* для поиска антигенсвязывающих молекул). Эти методы, среди прочего, можно использовать для идентификации и улучшения аффинности антител, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117), которые, в свою очередь, можно использовать для истощения эндогенных гемопоэтических стволовых клеток у пациента (например, пациента-человека), нуждающегося в трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками.

В дополнение к дисплейным методам *in vitro* можно использовать методы компьютерного моделирования для конструирования и идентификации антител или фрагментов антител *in silico*, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117). Например, с использованием методов компьютерного моделирования специалист в данной области может проводить скрининг библиотеки антител или фрагментов антител *in silico* на молекулы, способные связывать конкретные эпитопы, такие как внеклеточные эпитопы этого антигена. Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, идентифицированные с помощью этих методов компьютерного моделирования, можно использовать в сочетании с терапевтическими способами, описанными в данном документе, такими как способы лечения рака и аутоиммунных заболеваний, описанных в данном документе, и способы подготовки пациентов, описанные в данном документе.

Дополнительные методики можно использовать для идентификации антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117) на поверхности клетки (например, раковой клетки, аутоиммунной клетки или гемопоэтической стволовой клетки) и которые интернализируются клеткой, например, с помощью опосредованного рецепторами эндоцитоза. Например, описанные выше дисплейные методы *in vitro* можно адаптировать для скрининга антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117) на поверхности раковой клетки, аутоиммунной клетки или гемопоэтической стволовой клетки и которые впоследствии интернализируются. Фаговый дисплей представляет одну такую методику, которую можно использовать в сочетании с этой парадигмой скрининга. Для идентификации антител или их фрагментов, которые связывают CD117 (например, GNNK+ CD117) и впоследствии интернализируются раковыми клетками, аутоиммунными клетками или гемопоэтическими стволовыми клетками, специалист в данной области может адаптировать методы фагового дисплея, описанные, например, в Williams et al. *Leukemia* 19:1432-1438, 2005, раскрытие которого полностью включено в данный документ посредством ссылки. Например, с использованием методов мутагенеза, известных в данной области, можно получать рекомбинантные фаговые библиотеки, которые кодируют антитела, фрагменты антител, среди прочего, такие как фрагменты scFv, фрагменты Fab, диатела, триатела и домены ¹⁰Fn3, которые содержат кассеты рандомизированных аминокислот (например, в одной или нескольких или всех CDR или их эквивалентных областях или антителе или фрагменте антитела). Каркасные области, шарнир, домен Fc и другие области антител или фрагментов антител можно сконструировать таким образом, чтобы они были не иммуногенными у людей, например, за счет наличия

последовательностей антитела зародышевой линии человека или последовательностей, которые демонстрируют только небольшие отклонения относительно антител зародышевой линии человека.

С использованием методов фагового дисплея, описанных в данном документе или известных в данной области, фаговые библиотеки, содержащие рандомизированные антитела или фрагменты антител, ковалентно связанные с фаговыми частицами, можно инкубировать с антигеном CD117 (например, GNNK+ CD117), например, путем инкубирования сперва фаговой библиотеки с блокирующими средствами (такими как, например, молочный белок, бычий сывороточный альбумин и/или IgG, для удаления фагов, кодирующих антитела или их фрагменты, которые демонстрируют неспецифическое связывание белка, и фагов, которые кодируют антитела или их фрагменты, которые связывают домены Fc, а затем инкубирования фаговой библиотеки с популяцией гемопоэтических стволовых клеток. Фаговую библиотеку можно инкубировать с клетками-мишенями, такими как раковые клетки, аутоиммунные клетки или гемопоэтические стволовые клетки в течение времени, достаточного для обеспечения связывания специфическими к CD117 антителами или их антигенсвязывающими фрагментами, (например, специфическими к GNNK+ CD117 антителами или их антигенсвязывающими фрагментами) антигена CD117 клеточной поверхности (например, GNNK+ CD117 клеточной поверхности), а впоследствии интернализации раковыми клетками, аутоиммунными клетками или гемопоэтическими стволовыми клетками (например, от 30 минут до 6 часов при 4°C, например 1 час при 4°C). Фаг, содержащий антитела или их фрагменты, которые не демонстрируют достаточную аффинность с одним или несколькими этими антигенами для обеспечения связывания и интернализации раковыми клетками, аутоиммунными клетками или гемопоэтическими стволовыми клетками, можно впоследствии удалить путем промывания клеток, например, холодным (4°C) 0,1 М глициновым буфером при pH 2,8. Фаг, связанный с антителами или их фрагментами или которые были интернализированы раковыми клетками, аутоиммунными клетками или гемопоэтическими стволовыми клетками, можно идентифицировать, например, путем лизиса клеток и извлечения интернализированного фага из среды для клеточной культуры. Затем фаг можно амплифицировать в бактериальных клетках, например, путем инкубирования бактериальных клеток с извлеченным фагом в среде 2xYT с использованием способов, известных в данной области. Затем можно получить характеристику фага, извлеченного из этой среды, например, путем определения последовательности нуклеиновых кислот гена (генов), кодирующих антитела или их фрагменты, встроенных в геном фага. Закодированные антитела или их фрагменты впоследствии можно получить вновь путем химического синтеза (например, фрагментов антител, таких как фрагменты scFv) или путем рекомбинантной экспрессии (например, полноразмерных антител).

Способность интернализации полученных антител или их фрагментов можно оценивать, например, с использованием радионуклеотидных анализов интернализации,

известных в данной области. Например, антитела или их фрагменты, идентифицированные с использованием дисплейных методов *in vitro*, описанных в данном документе или известных в данной области, можно функционализировать путем включения радиоактивного изотопа, такого как ^{18}F , ^{75}Br , ^{77}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , ^{211}At , ^{67}Ga , ^{111}In , ^{99}Tc , ^{169}Yb , ^{186}Re , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{177}Lu , ^{77}As , ^{72}As , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Zr , ^{212}Bi , ^{213}Bi или ^{225}Ac . Например, в антитела или их фрагменты можно включить радиоактивные галогены, такие как ^{18}F , ^{75}Br , ^{77}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , ^{211}At , с использованием шариков, таких как полистироловые шарики, содержащие электрофильные галогеновые реагенты (например, Iodination Beads, Thermo Fisher Scientific, Inc., Cambridge, MA). Радиомеченные антитела или их фрагменты можно инкубировать с раковыми клетками, аутоиммунными клетками или гемопоэтическими стволовыми клетками в течение времени, достаточного чтобы обеспечить интернализацию (например, от 30 минут до 6 часов при 4°C , например, 1 час при 4°C). Затем клетки можно промыть для удаления не интернализированных антител или их фрагментов, (например, с использованием холодного (4°C) 0,1 М глицинового буфера при pH 2,8). Интернализированные антитела или их фрагменты можно идентифицировать путем обнаружения излучаемой радиации (например, γ -радиации) полученных раковых клеток, аутоиммунных клеток или гемопоэтических стволовых клеток по сравнению с излучаемой радиацией (например, γ -радиации) извлеченного промывочного буфера.

Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC)

Цитотоксины

Антитела против CD117 и их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно конъюгировать (связывать) с цитотоксином. В некоторых вариантах осуществления цитотоксичная молекула конъюгирована с клеткой, интернализирующей антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые раскрыты в данном документе, таким образом, чтобы после поглощения клеткой антитела или его фрагмента, цитотоксин мог получить доступ к своей внутриклеточной мишени и опосредовать гибель гемопоэтической клетки. С антителом против CD117 может быть конъюгировано любое количество цитотоксинов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

Цитотоксины, подходящие для использования с композициями и способами, описанными в данном документе, включают известные, среди прочего, в данной области интеркалирующие ДНК средства, (например, антрациклины), средства, способные разрушать аппарат митотического веретена (например, алкалоиды барвинка, майтансин, майтанзиноиды и их производные), ингибиторы РНК-полимераз (например, аматоксин, такой как α -аманитин и их производные) и средства, способные разрушать биосинтез белков (например, средства, которые демонстрируют активность rRNA N-гликозидазы, такие как сапорин и А-цепь рицина).

В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является связывающее микротрубочки средство (например, майтансин или майтанзиноид), аматоксин, экзотоксин А синегнойной палочки, дебуганин, дифтерийный токсин, сапорин, ауристатин, антрациклин, калихимицин, иринотекан, SN-38, дуокармицин, пирролбензодиазепин,

димер пирролбензодиазепина, индолинбензодиазепин, димер индолинбензодиазепина или их варианты или другое цитотоксичное соединение, описанное в данном документе или известное в данной области.

Дополнительные цитотоксины, подходящие для использования с композициями и способами, описанными в данном документе, среди прочего, включают, но без ограничения, 5-этинилурацил, абиратерон, ацилфулвен, адеципенол, адозелезин, алдеслейкин, алтретамин, амбамустин, амидокс, амифостин, аминоклевулиновую кислоту, амрубицин, амсакрин, анагрелид, анастрозол, андрографолид, ингибиторы ангиогенеза, антареликс, анти-дорсализующий морфогенетический белок-1, антиандроген, цитотоксин карциномы предстательной железы, антиэстроген, антинеопластон, антисмысловые олигонуклеотиды, афидиколлин глицинат, модуляторы гена апоптоза, регуляторы апоптоза, апуриновую кислоту, асулакрин, атаместан, атримустин, аксинастатин 1, аксинастатин 2, аксинастатин 3, азасетрон, азатоксин, азатиридин, производные баккатина III, баланол, батимастат, антагонисты BCR/ABL, бензохлорины, бензоилстауроспорин, производные бета-лактама, бета-алетин, бетакламицин В, бетулиновую кислоту, ингибиторы bFGF, бикалутамид, бизантрен, бисазиридирилспермин, биснафид, бистратен А, бизелезин, брефлат, блеомицин А2, блеомицин В2, бропиримин, будотитан, бутионин, сульфоксимин, кальципотриол, калфостин С, производные камптотецина (например, 10-гидроксикамптотецин), капецитабин, карбоксамид-амино-триазол, карбоксиамидотриазол, карцелезин, ингибиторы казеинкиназы, кастаноспермин, цекропин В, цетрореликс, хлорины, хлорхиноксалиния сульфонамид, цикапрост, цис-порфирина, кладрибин, кломифен и его аналоги, клотримазол, коллисмидин А, коллисмидин В, комбретастатин А4, аналоги комбретастатина, конагенин, крамбесцидин 816, криснатол, криптофицин 8, производные криптофицина А, курацин А, циклопентантрахиноны, циклоплатам, ципемидин, цитарабин оксифосфат, цитолитический фактор, цитостатин, дакликсимаб, децитабин, дегидродидемнин В, 2-дезоксикоформицин (DCF), деслорелин, дексифосфамид, дексразоксан, дексверапамил, диазиквон, дидемнин В, дидокс, диэтилнорспермин, дигидро-5-азацитидин, дигидротаксол, диоксаметин, дифенилспиромустин, дискодермолит, докозанол, доласетрон, доксифлуридин, дролоксифен, дронабинол, дуокармицин SA, эбселен, экомустин, эделфосин, эдрекломаб, эфлорнитин, элемен, эмитефур, эпотилоны, эпителины, эпиристерид, эстрамустин и его аналоги, этопозид, этопозид 4'-фосфат (также называемый этопофос), экземестан, фадрозол, фазарабин, фенретирид, филграстин, финастерид, флавопиридол, флезеластин, флуастерон, флюдарабин, фтордаунорунин гидрохлорид, форфенимекс, форместан, фостриецин, фотемустин, гадолиний текзафирин, нитрат галлия, галоцитабин, ганиреликс, ингибиторы желатиназы, гемцитабин, ингибиторы глутатиона, гепсульфам, гомогаррингтонин (ННТ), гиперидин, ибандроновую кислоту, идоксифен, идрамантон, илмофосин, иломастат, имидазоакридоны, имиквимод, иммуностимулирующие пептиды, йобенгуан, йододоксорибицин, ипомеанол, иринотекан, ироплакт, ирсогладин, изобенгазол, джасплакинолид, кахалалид F, ламелларин-N триацетат, ланреотид,

лейнамицин, ленограстим, лентинан сульфат, лептолстатин, летрозол, липофильные соединения платины, лиссоклинамид 7, лобоплатин, лометрексол, лонидамин, лозоксантрон, локсорибин, луртотекан, лютеций тексафирин, лизофиллин, мазопрокол, маспин, ингибиторы матричной металлопротеиназы, меногарил, мербарон, метерелин, метиониназу, метоклопрамид, ингибитор MIF, ифепристон, мильтефозин, миримостим, митрацин, митогуазон, митолактол, митомицин и его аналоги, митонафид, митоксантрон, мофаротен, молграмостим, микапероксид В, мириапорон, N-ацетилдиналин, N-замещенные бензамиды, нафарелин, нагрестип, напавин, нафтерпин, нартограстим, недаплатин, неморубицин, неридроновую кислоту, нилутамид, низамицин, нитруллин, октреотид, окиценон, онапристон, ондансетрон, орацин, ормаплатин, оксалиплатин, оксауномицин, паклитаксел и его аналоги, палауамин, пальмитоилризоксин, памидроновую кислоту, панакситриол, паномифен, парабактин, пазеллиптин, пегаспаргазу, пелдезин, пентозан полисульфат натрий, пентостатин, пентрозол, перфлуброн, перфосфамид, феназиномицин, пицибанил, пирарубицин, пиритрексим, подофиллотоксин, порфирамицин, ингибиторы пурин-нуклеозидфосфорилазы, ралтитрексед, ризоксин, роглетимид, рохитукин, рубигинон В1, рубоксил, сафигнол, саинтопин, саркофитол А, сарграмостим, собузоксан, сонермин, спарфосовую кислоту, спикамицин D, спирумустин, стипиамид, сульфинозин, таллимустин, тегафур, темозоламид, тенипозид, талибластин, тиокоралин, тирапазамин, топотекан, топсентин, трицирибин, триметрексам, верамин, винорелбин, винксалтин, ворозол, зениплатин и зиласкорб.

Антитела против CD117 и их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, могут конъюгировать с цитотоксином, который представляет связывающее микротрубочки средство. В рамках настоящего изобретения термин «связывающее микротрубочки средство» относится к соединению, которое действует путем разрушения микроканальцевой сети, которая необходима для митотической и межфазной клеточной функции в клетке. Примеры связывающих микротрубочки средств включают, но без ограничения, майтазин, майтанзиноиды и их производные, такие как те, что описаны в данном документе или известны в данной области, алкалоиды барвинка, такие как винбластин, винбластин сульфат, винкристин, винкристин сульфат, виндезин и винорелбин, таксаны, такие как доцетаксел и паклитаксел, макролиды, такие как дискодермолиды, колхицин и эпотилоны и их производные, такие как эпотилон В или его производное.

Майтанзиноиды

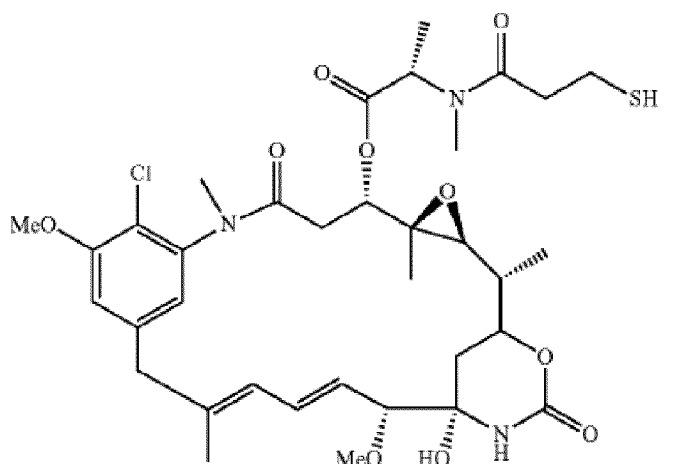
В некоторых вариантах осуществления связывающим микротрубочки средством является майтансин, майтанзиноид или аналог майтанзиноида. Майтанзиноиды представляют собой митотические ингибиторы, которые связывают микротрубочки и действуют, ингибируя полимеризацию тубулина. Майтансин сперва выделили из кустарника *Maytenus serrata* в восточной Африке (патент США № 3896111). Впоследствии, было обнаружено, что некоторые микробы также вырабатывают майтанзиноиды, такие как майтанзинол и сложные эфиры майтанзинола С-3 (патент США № 4151042).

Синтетический майтанзинол и его производные и аналоги раскрыты, например, в патентах США №№ 4137230; 4248870; 4256746; 4260608; 4265814; 4294757; 4307016; 4308268; 4308269; 4309428; 4313946; 4315929; 4317821; 4322348; 4331598; 4361650; 4364866; 4424219; 4450254; 4362663; и 4371533. Фрагменты лекарственного средства майтанзиноид являются привлекательными фрагментами лекарственного средства в конъюгатах антитело-лекарственное средство, потому что они: (i) относительно доступны для получения путем ферментации или химической модификации, дериватизации продуктов ферментации, (ii) поддаются дериватизации функциональными группами, подходящими для конъюгации через не дисульфидные линкеры с антителами, (iii) стабильные в плазме и (iv) эффективны от множества линий опухолевых клеток.

Примеры подходящих майтанзиноидов включают сложные эфиры майтанзинола, синтетический майтанзинол и аналоги и производные майтанзинола. В данный документ включены любые цитотоксины, которые ингибируют образование микротрубочек и которые являются высокотоксичными для клеток млекопитающих, как и майтанзиноиды, майтанзинол и аналоги и производные майтанзинола.

Примеры подходящих сложных эфиров майтанзинола включают те, что имеют модифицированное ароматическое кольцо и те, что имеют модификации в других позициях. Такие подходящие майтанзиноиды раскрыты в патентах США №№ 4137230; 4151042; 4248870; 4256746; 4260608; 4265814; 4294757; 4307016; 4308268; 4308269; 4309428; 4313946; 4315929; 4317821; 4322348; 4331598; 4361650; 4362663; 4364866; 4424219 ;4450254; 4322348; 4362663; 4371533; 5208020; 5416064; 5475092; 5585499; 5846545; 6333410; 7276497; и 7473796, раскрытие каждого из которых включено в данный документ посредством ссылки, так как они относятся к майтанзиноидам и их производным.

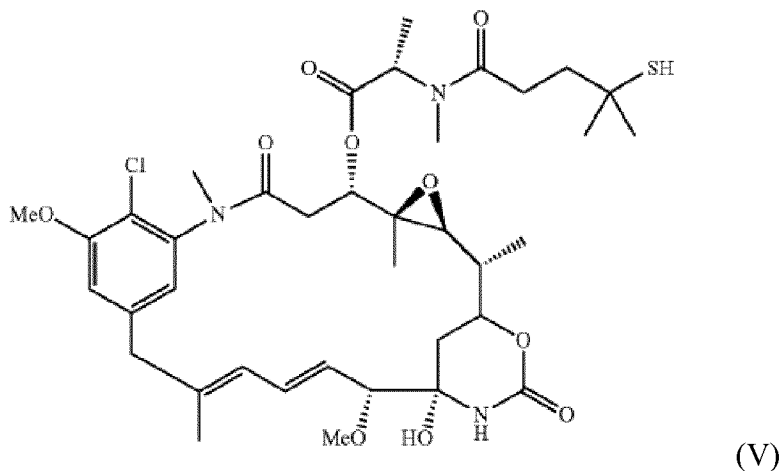
В некоторых вариантах осуществления в качестве цитотоксичного средства в иммуноконъюгатах согласно изобретению используют тиолсодержащий майтанзиноид (DM1), формально называемый N^{2'}-деацетил-N^{2'}-(3-меркапто-1-оксопропил)-майтансин. DM1 представлен структурной формулой (VII):



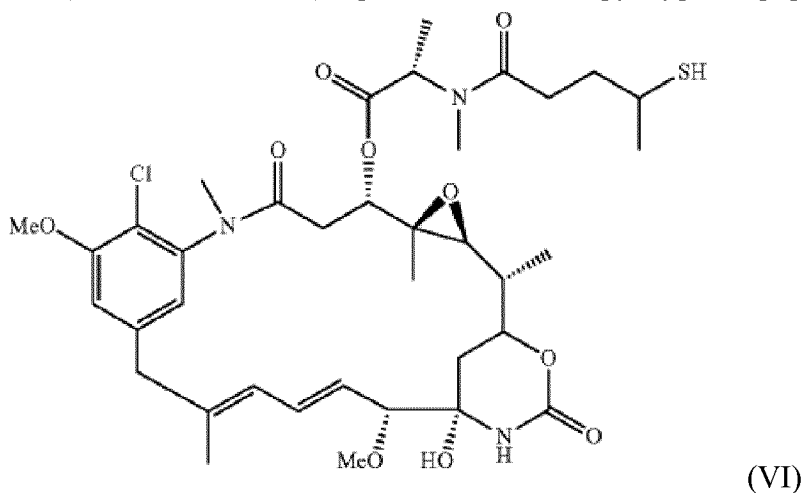
(VII)

В другом варианте осуществления в качестве цитотоксичного средства в конъюгатах

согласно настоящему изобретению используют тиолсодержащий майтанзиноид N^{2'}-деацетил-N^{2'}-(4-метил-4-меркапто-1-оксопентил)-майтансин (например, DM4). DM4 представлен структурной формулой (V):



Другой майтанзиноид, содержащий боковую цепь, которая содержит стерически затрудненную тиольную связь, представляет N^{2'}-деацетил-N^{2'}-(4-меркапто-1-оксопентил)-майтансин (называемый DM3), представленный структурной формулой (VI):



Каждый из майтанзиноидов, указанных в патентах США №№ 5208020 и 7276497, также можно использовать в конъюгате согласно настоящему изобретению. В связи с этим все раскрытие 5208020 и 7276697 включено в данный документ посредством ссылки.

Многие позиции на майтанзиноидах могут служить в качестве позиций для химического связывания связывающего фрагмента. Например, ожидается, что позиция С-3, имеющая гидроксильную группу, позиция С-14, модифицированная гидроксиметилом, позиция С-15, модифицированная гидрокси и позиция С-20, имеющая гидроксигруппу, все будут полезными. В некоторых вариантах осуществления позиция С-3 служит в качестве позиции для химического связывания связывающего фрагмента, а в некоторых конкретных вариантах осуществления позиция С-3 майтанзинола служит в качестве позиции для химического связывания связывающего фрагмента. Существует много связывающих групп, известных в данной области, для получения конъюгатов антитело-майтанзиноид, включая, например, те, что раскрыты в патентах США №№ 5208020, 6441163 и патенте ЕР

№ 0425235 B1; Chari et al. *Cancer Research* 52:127-131 (1992); и U.S. 2005/0169933 A1, раскрытия которых явным образом включены настоящим посредством ссылки. В данном документе описаны и приведены в качестве примера дополнительные связывающие группы.

В настоящее раскрытие также включены различные изомеры и смеси майтанзиноидов и конъюгатов. Некоторые соединения и конъюгаты согласно настоящему изобретению могут существовать в различных стереоизомерных, энантиомерных и диастериомерных формах. Несколько описаний получения таких конъюгатов антитело-майтанзиноид представлены в патентах США №№ 5208020, 5416064 6333410, 6441163, 6716821 и 7368565, каждый из которых полностью включен в данный документ.

Терапевтически эффективное количество связанных молекул майтанзиноида на молекулу антитела можно определить путем спектрофотометрического измерения соотношения поглощения при 252 нМ и 280 нМ. В среднем 3-4 конъюгированных молекул майтанзиноида на молекулу антитела могут повышать цитотоксичность клеток-мишеней без отрицательного влияния на функцию или растворимость антитела, хотя одна молекула токсина/антитела может усиливать цитотоксичность выше чем только антитело. Среднее количество молекул майтанзиноид/антитело или их антигенсвязывающих фрагментов может составлять, например, 1-10 или 2-5.

Антрациклины

В других вариантах осуществления антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно конъюгировать с цитотоксином, которым является молекула антрациклина. Антрациклины представляют собой соединения антибиотиков, которые демонстрируют цитотоксическую активность. Исследования показали, что антрациклины могут действовать, уничтожая клетки с помощью ряда различных механизмов, включая: 1) интеркаляцию молекул лекарственных средств в ДНК клетки, ингибируя таким образом ДНК-зависимый синтез нуклеиновой кислоты; 2) получения с помощью лекарственного средства свободных радикалов, которые затем вступают в реакцию с клеточными макромолекулами, вызывая повреждение клеток или 3) взаимодействие молекул лекарственных средств с клеточной мембраной [см., например, C. Peterson et al., «Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia» in *Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy*; N.R. Bachur, «Free Radical Damage» id. at pp.97-102]. Вследствие их цитотоксичного потенциала антрациклины использовали для лечения множества видов рака, таких как лейкоз, карцинома молочной железы, карцинома легких, аденокарцинома и саркома яичников [см., например, P.H- Wiernik, in *Anthracycline: Current Status And New Developments* p 11]. Широко используемые антрациклины включают доксорубин, эпидорубин, идарубин и дауномицин.

Считается, что аналог антрациклина, доксорубин (ADRIAMYCINO) взаимодействует с ДНК путем интеркаляции и ингибирования прогрессирования фермента топоизомеразы II, который расплетает ДНК для транскрипции. Доксорубин стабилизирует комплекс топоизомеразы II после разрыва им цепи ДНК для репликации,

предотвращая высвобождение двойной спирали ДНК и, таким образом, останавливая процесс репликации. Доксорубин и даунорубин (ДАУНОМИЦИН) представляют собой прототип цитотоксичного натурального продукта антрациклиновых химиотерапевтических средств (Sessa et al. (2007) *Cardiovasc. Toxicol.* 7:75-79).

Пирролбензодиазепины (PBD)

В других вариантах осуществления антитела против CD117 или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно конъюгировать с цитотоксином, который представляет пирролбензодиазепин (PBD), или цитотоксином, который содержит PBD. PBD представляют собой натуральные продукты, продуцируемые некоторыми актиномицетами, и было показано, что они представляют собой селективные к последовательности алкилирующие ДНК соединения. Цитотоксины PBD включают, но без ограничения, антрамицин, димерные PBD и те, что раскрыты, например, в Hartley, J.A. (2011). «The development of pyrrolobenzodiazepines as antitumour agents». *Expert Opin. Inv. Drug*, 20(6), 733-744; and Antonow, D.; Thurston, D.E. (2011) «Synthesis of DNA-interactive pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepines (PBDs)». *Chem. Rev.* 111: 2815-2864.

Калихимицин

В других вариантах осуществления антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно конъюгировать с цитотоксином, который представляет молекулу калихимицина. Калихимициновое семейство антибиотиков способно образовывать двухцепочечные разрывы ДНК в субпикомолярных концентрациях. Для получения конъюгатов калихимицинового семейства, см. патенты США №№ 5712374; 5714586; 5739116; 5767285; 5770701; 5770710; 5773001; и 5877296 (все American Cyanamid Company). Структурные аналоги калихимицина, которые можно использовать, включают, но без ограничения, те, что раскрыты, например, в Hinman et al. *Cancer Research* 53:3336-3342 (1993), Lode et al. *Cancer Research* 58:2925-2928 (1998) и вышеупомянутых патентах США American Cyanamid.

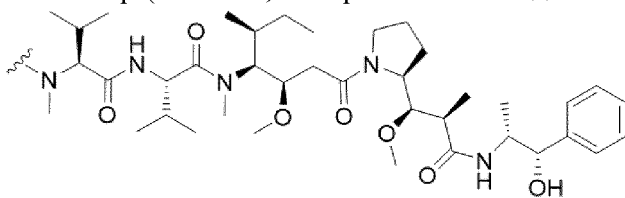
Ауристатины

Антитела против CD117 и их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно конъюгировать с цитотоксином, которым является ауристатин (патенты США №№ 5635483; 5780588). Ауристатины представляют собой антимитотические средства, которые влияют на динамику микротрубочек, гидролиз GTP и ядерное и клеточное деление (Woyke et al (2001) *Antimicrob. Agents Chemother.* 45(12):3580-3584) и обладают противораковой (патент США № 5663149) и противогрибковой активностью (Pettit et al (1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2961-2965) (патенты США №№ 5635483; 5780588). Фрагмент ауристатинового лекарственного средства может быть прикреплен к антителу через N-(амино) конец или C- (карбоксильный) конец пептидного фрагмента лекарственного средства (WO 02/088172).

Иллюстративные варианты осуществления ауристатина включают связанные с N-концом фрагменты лекарственного средства монометилауристатина DE и DF, раскрытые в Senter et al, *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, Volume 45, Abstract

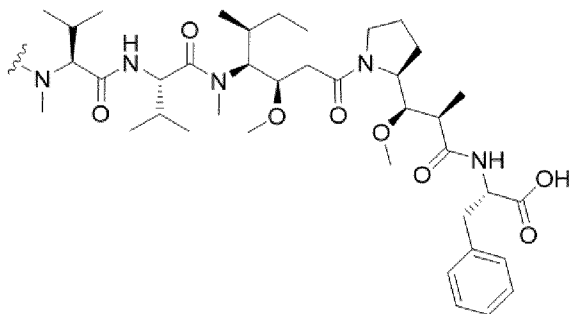
Number 623, представленном 28 марта 2004 года, раскрытие которого явным образом полностью включено посредством ссылки.

Иллюстративным вариантом осуществления ауристатина является MMAE, в котором волнистая линия указывает место ковалентного соединения с линкером конъюгата антитело-линкер (-L-Z-Ab, который описан в данном документе).



Другим иллюстративным вариантом

осуществления ауристатина является MMAF, в котором волнистая линия указывает место ковалентного соединения с линкером конъюгата антитело-линкер (-L-Z-Ab, который описан в данном документе), который раскрыт в US 2005/0238649:



Ауристатины можно получать согласно способам: патента США № 5635483; патента США № 5780588; Pettit et al (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit et al (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G. R., et al. Synthesis, 1996, 719-725; Pettit et al (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863; и Doronina (2003) Nat. Biotechnol. 21(7):778-784.

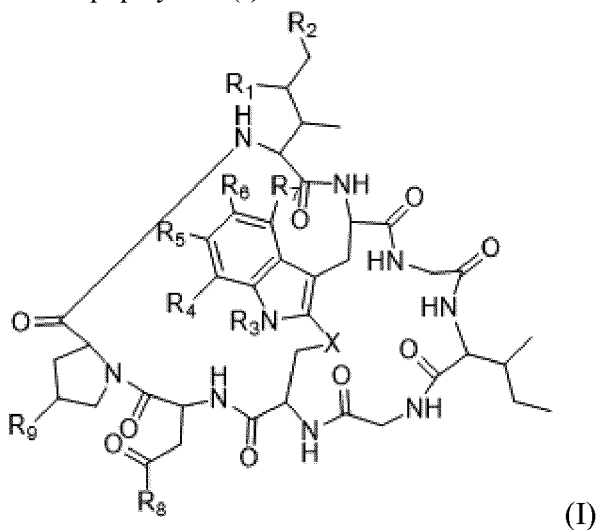
Аматоксины

В некоторых вариантах осуществления цитотоксином конъюгата антитело-лекарственное средство является ингибитор РНК-полимеразы. В некоторых вариантах осуществления ингибитором РНК-полимеразы является аматоксин или его производное.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является аматоксин или его производное, такое как α -аманитин, β -аманитин, γ -аманитин, ϵ -аманитин, аманин, аманинамид, амануллин, амануллиновая кислота и проамануллин. Структуры различных аматоксинов естественного происхождения представлены формулой III и раскрыты, например, в Zanotti et al. Int. J. Peptide Protein Res. 30, 1987, 450-459.

В одном варианте осуществления цитотоксином является аманитин. Например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, могут быть связаны с аматоксином с образованием конъюгата, представленного формулой Ab-Z-L-Am, в которой Ab представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, L представляет линкер, Z представляет химический фрагмент, а Am представляет аматоксин. Множество позиций на аматоксинах или их производных могут служить в качестве позиции ковалентной связи, связывающей фрагмент L и, следовательно, антитела или их

антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (I)



где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

R_C представляет -L-Z;

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет линкер, такой как необязательно замещенный алкилен (например, C₁-C₆ алкилен), необязательно замещенный гетероалкилен (C₁-C₆ гетероалкилен), необязательно замещенный алкенилен (например, C₂-C₆ алкенилен), необязательно замещенный гетероалкенилен (например, C₂-C₆ гетероалкенилен), необязательно замещенный алкинилен (например, C₂-C₆ алкинилен), необязательно замещенный гетероалкинилен (например, C₂-C₆ гетероалкинилен), необязательно замещенный

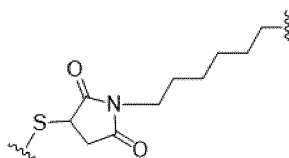
циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен,

дипептид, $-(C=O)-$, пептид или их комбинацию; а

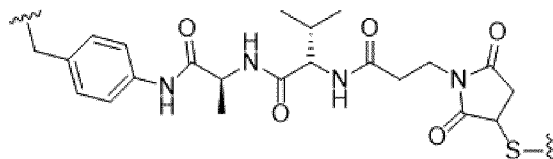
Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117).

В некоторых вариантах осуществления Am содержит ровно один R_C заместитель.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH)_n-$, где n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит $-((CH_2)_n)$, когда n составляет 6. В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

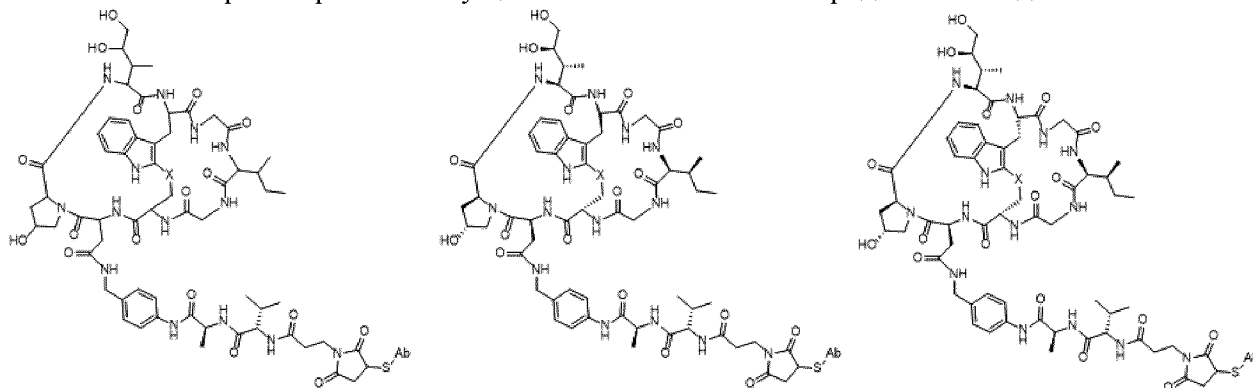


где S представляет атом серы, который представляет реакционноспособный заместитель, имеющийся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (например, из группы $-SH$ цистеинового остатка).



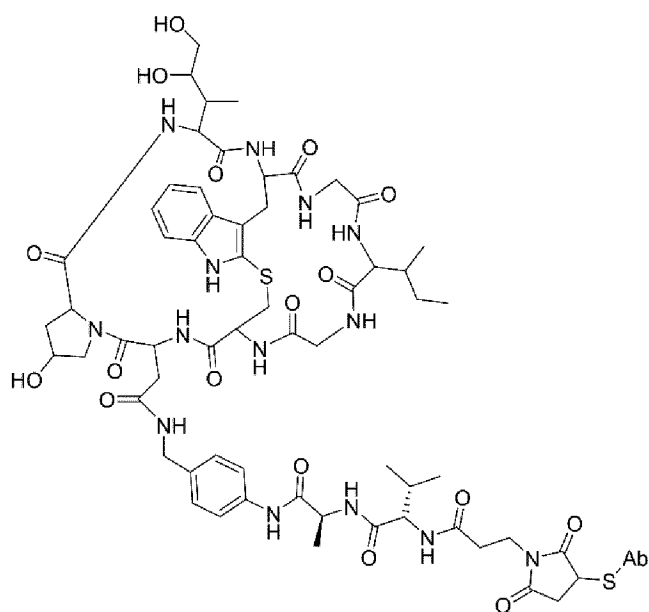
В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет одно из:



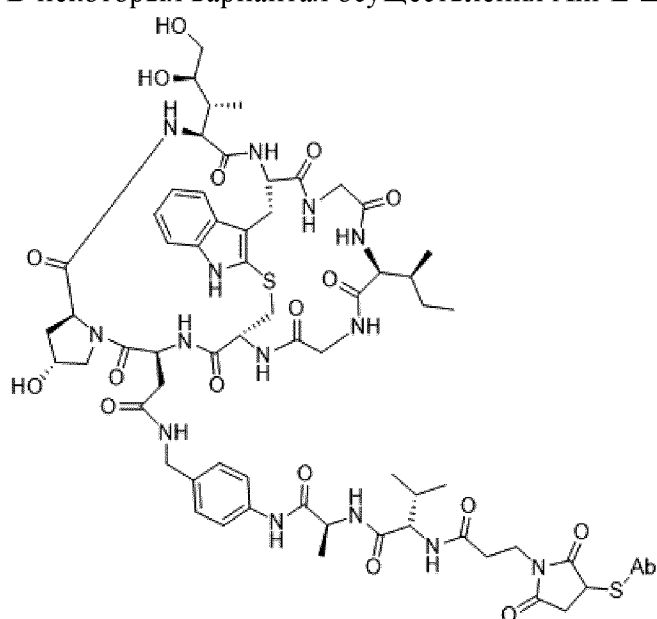
(IV) (IVA) (IVB)

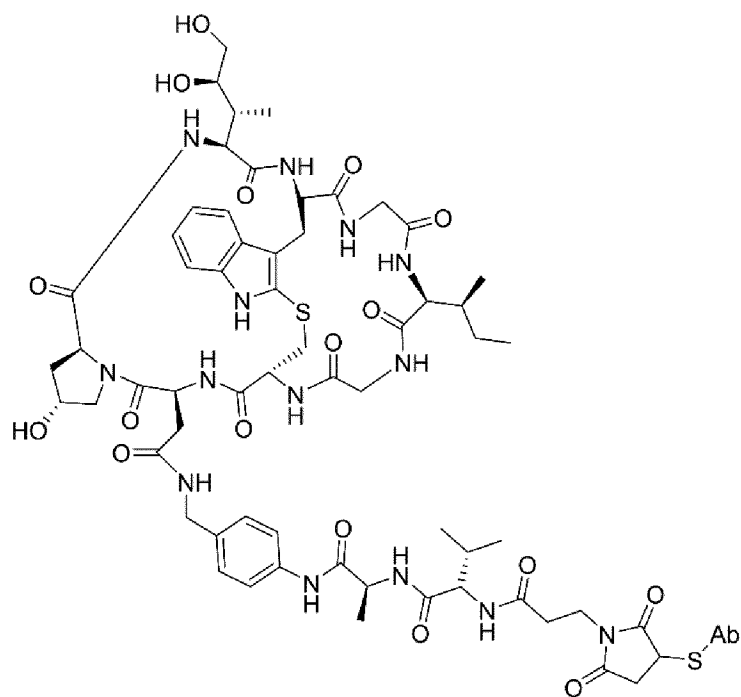
где X представляет $-S-$, $-S(O)-$ или $-SO_2-$.



В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет

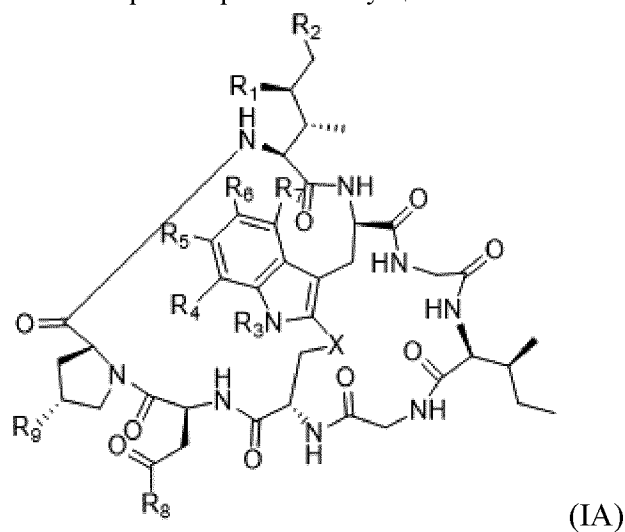
В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет





В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет

В некоторых вариантах осуществления Am представлен формулой (IA)



(IA)

где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

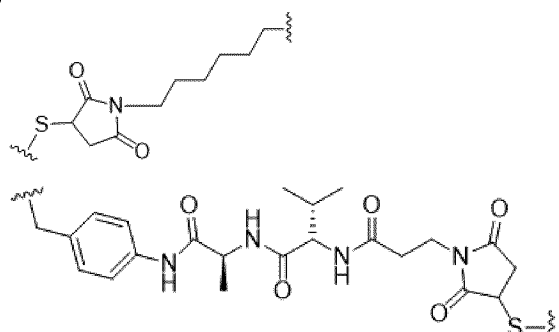
R_C представляет -L-Z;

R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет линкер, такой как необязательно замещенный алкилен (например, C₁-C₆ алкилен), необязательно замещенный гетероалкилен (C₁-C₆ гетероалкилен), необязательно замещенный алкенилен (например, C₂-C₆ алкенилен), необязательно замещенный гетероалкенилен (например, C₂-C₆ гетероалкенилен), необязательно замещенный алкинилен (например, C₂-C₆ алкинилен), необязательно замещенный гетероалкинилен (например, C₂-C₆ гетероалкинилен), необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, -(C=O)-, пептид или их комбинацию;

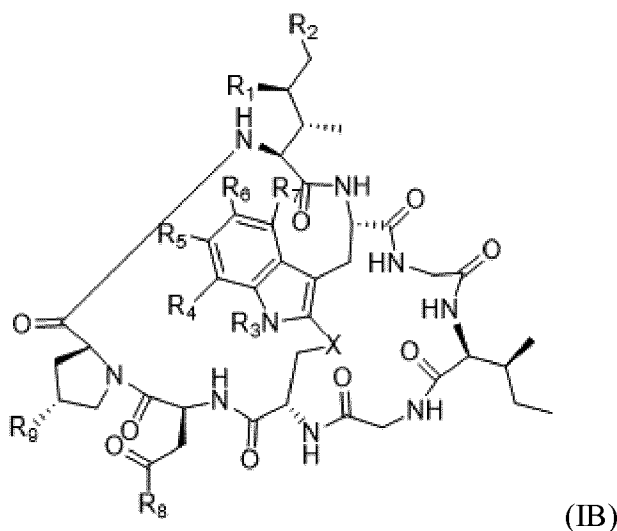
Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117); и

где Am содержит ровно один R_C заместитель. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит -((CH₂)_n), когда n составляет 6. В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет



В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IB)



где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R_3 представляет H, R_C или R_D ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C или $NR_C R_D$;

R_9 представляет H, OH, OR_C или OR_D ;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

R_C представляет -L-Z;

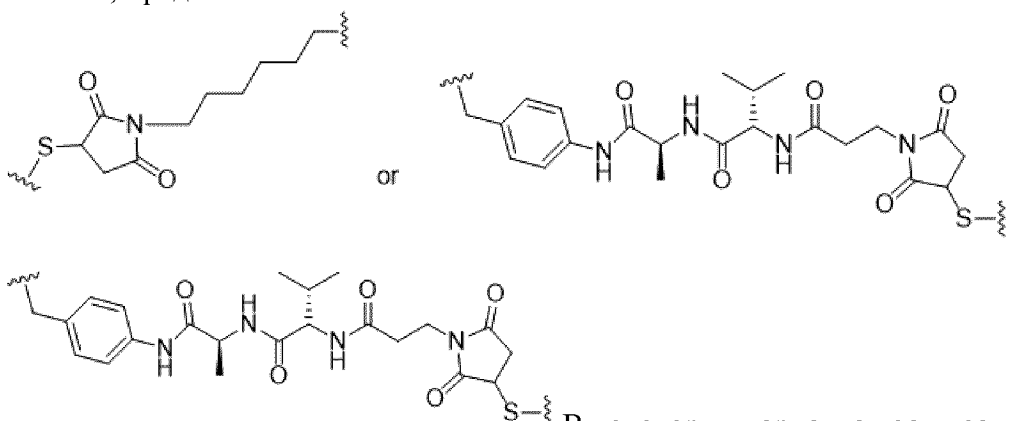
R_D представляет необязательно замещенный алкил (например, C₁-C₆ алкил), необязательно замещенный гетероалкил (например, C₁-C₆ гетероалкил), необязательно замещенный алкенил (например, C₂-C₆ алкенил), необязательно замещенный гетероалкенил (например, C₂-C₆ гетероалкенил), необязательно замещенный алкинил (например, C₂-C₆ алкинил), необязательно замещенный гетероалкинил (например, C₂-C₆ гетероалкинил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет линкер, такой как необязательно замещенный алкилен (например, C₁-C₆ алкилен), необязательно замещенный гетероалкилен (C₁-C₆ гетероалкилен), необязательно замещенный алкенилен (например, C₂-C₆ алкенилен), необязательно замещенный гетероалкенилен (например, C₂-C₆ гетероалкенилен), необязательно замещенный алкинилен (например, C₂-C₆ алкинилен), необязательно замещенный гетероалкинилен (например, C₂-C₆ гетероалкинилен), необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен,

дипептид, $-(C=O)-$, пептид или их комбинацию;

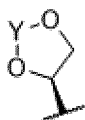
Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117); и где Am содержит ровно один R_C заместитель.

В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления L-Z представляет

В некоторых вариантах осуществления R_A и R_B , вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием 5-членной гетероциклоалкильной группы формулы:



где Y представляет $-(C=O)-$, $-(C=S)-$, $-(C=NR_E)-$ или $-(CR_E R_{E'})-$; а

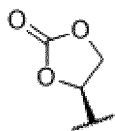
R_E и $R_{E'}$ каждый независимо представляет необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен- R_C , необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкилен- R_C , необязательно замещенный C_2-C_6 алкенилен- R_C , необязательно замещенный C_2-C_6 гетероалкенилен- R_C , необязательно замещенный C_2-C_6 алкинилен- R_C , необязательно замещенный C_2-C_6 гетероалкинилен- R_C , необязательно замещенный циклоалкилен- R_C , необязательно замещенный гетероциклоалкилен- R_C , необязательно замещенный арилен- R_C или необязательно замещенный гетероарил- R_C .

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:



R_3 представляет H или R_C ;

R_4 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_5 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_6 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_7 представляет H, OH, OR_C , OR_D , R_C или R_D ;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C или NHR_C ;

R_9 представляет H или OH;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-; и

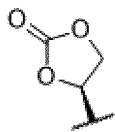
где R_C и R_D каждый соответствует определению выше.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 представляет H, OH, OR_A или OR_C ;

R_2 представляет H, OH, OR_B или OR_C ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:



R_3 представляет H или R_C ;

R_4 и R_5 каждый независимо представляет H, OH, OR_C , R_C или OR_D ;

R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C или NHR_C ;

R_9 представляет H или OH;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-; и

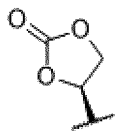
где R_C соответствует определению выше.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 представляет H, OH или OR_A ;

R_2 представляет H, OH или OR_B ;

R_A и R_B , при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:



R_3 , R_4 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_5 представляет OR_C ;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-; и

где R_C соответствует определению выше. Такие конъюгаты аматоксина описаны, например, в публикации заявки на получение патента США № 2016/0002298, раскрытие которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 представляет R_C ;

R_4 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_5 представляет H, OH или OC_1-C_6 алкил;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH; и

где R_C соответствует определению выше. Такие конъюгаты аматоксина описаны, например, в публикации заявки на получение патента США № 2014/0294865, раскрытие которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_4 и R_5 каждый независимо представляет H, OH, OR_C или R_C ;

R_8 представляет OH или NH_2 ;

R_9 представляет H или OH; и

где R_C соответствует определению выше. Такие конъюгаты аматоксина описаны, например, в публикации заявки на получение патента США № 2015/0218220, раскрытие которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (IA) или формулой (IB),

где R_1 и R_2 каждый независимо представляет H или OH;

R_3 , R_6 и R_7 каждый представляет H;

R_4 и R_5 каждый независимо представляет H или OH;

R_8 представляет OH, NH_2 , OR_C или NHR_C ;

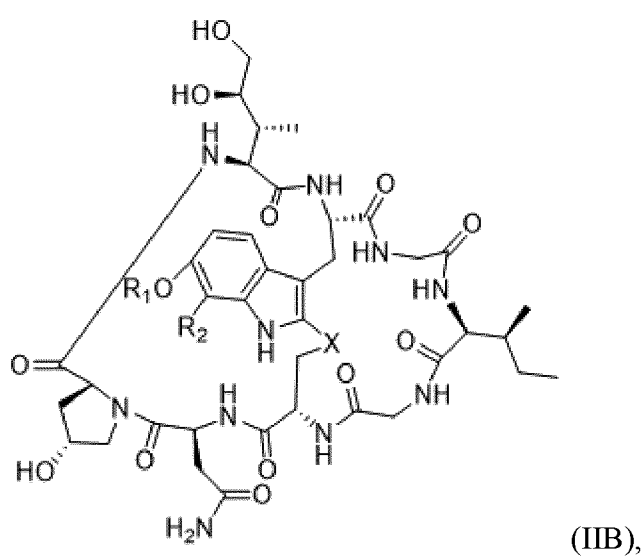
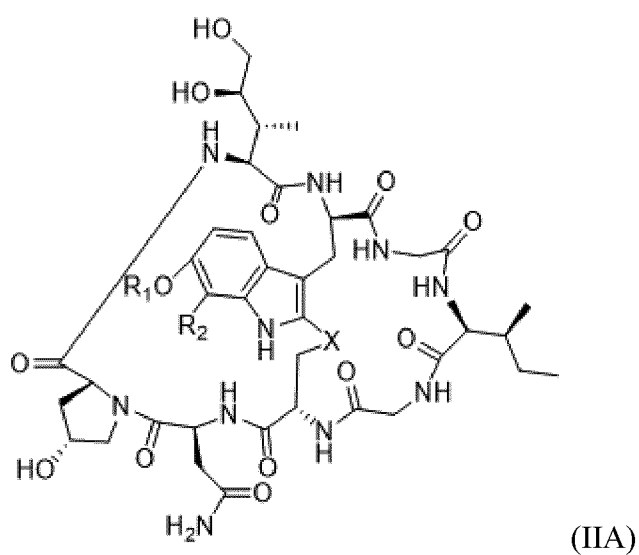
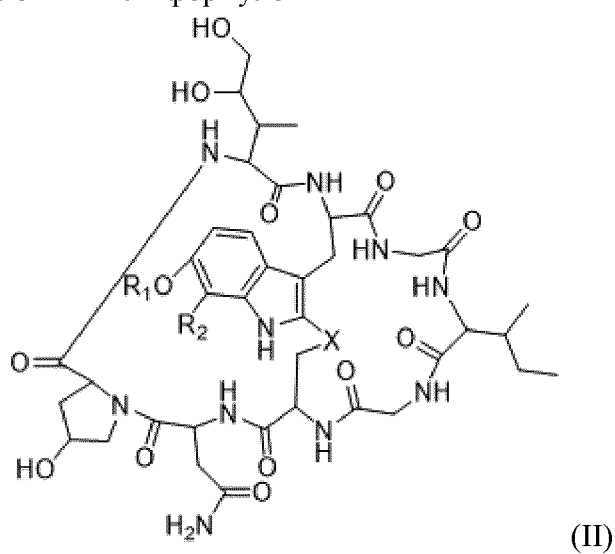
R_9 представляет H или OH; и

где R_C соответствует определению выше. Такие конъюгаты аматоксина описаны, например, в патенте США №№ 9233173 и 9399681, а также в US 2016/0089450, раскрытие каждого из которых полностью включено в данный документ посредством ссылки.

Дополнительные аматоксины, которые можно использовать для конъюгации с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом согласно композициям и способам, описанным в данном документе, описаны, например, в WO 2016/142049; WO 2016/071856;

и WO 2017/046658, раскрытие каждого из которых полностью включено в данный документ посредством ссылки.

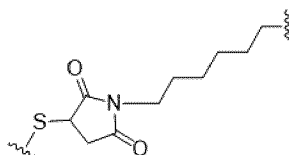
В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z представлен формулой (II), формулой IIA или формулой IIB



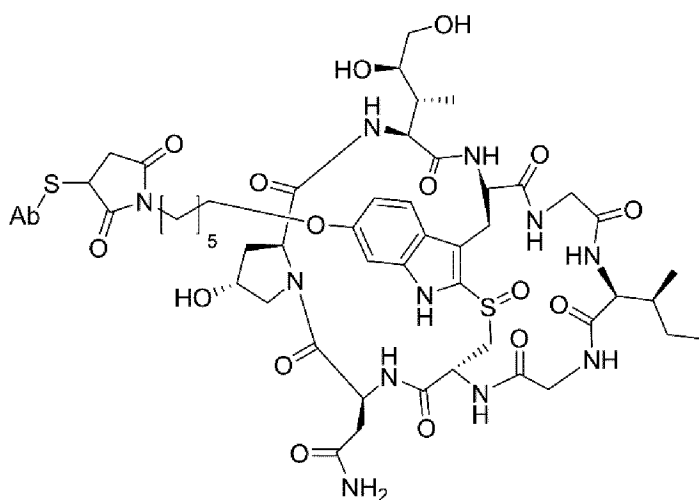
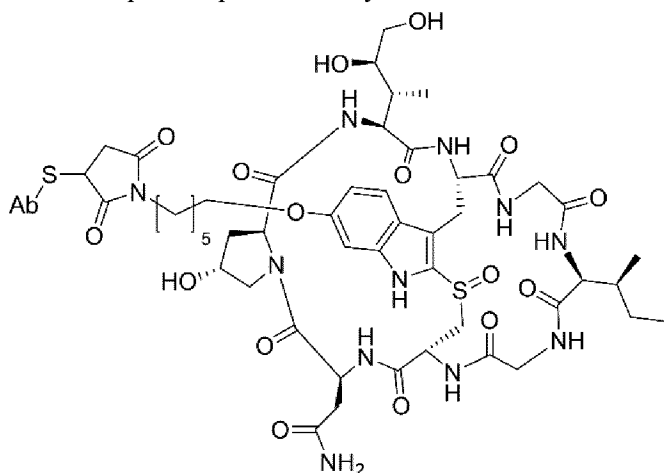
где X представляет S, SO или SO₂; R₁ представляет H или линкер, ковалентно

связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; а R_2 представляет H или линкер, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; где, когда R_1 представляет H, R_2 представляет линкер, а когда R_2 представляет H, R_1 представляет линкер.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, где n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления R_1 представляет линкер, а R_2 представляет H, а линкер и химический фрагмент, вместе в виде L-Z, представляет



В некоторых вариантах осуществления Am-L-Z-Ab представляет:

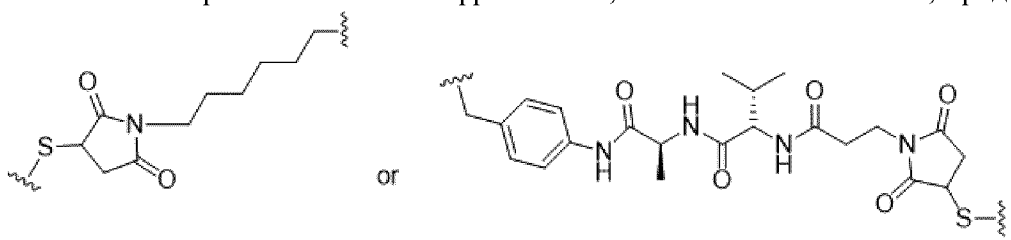


В некоторых вариантах

осуществления Am-L-Z-Ab представляет:

В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является α -аманитин. В некоторых вариантах осуществления α -аманитин представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления α -аманитин формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с α -аманитином формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R^1 - R^9) с получением конъюгата α -аманитин-линкер формулы I, IA, IB, II, IIA, IIB, IV, IVA или IVB. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^1 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^2 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^3 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^4 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^5 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^6 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^7 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^8 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^9 . В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-((C=O)(CH_2)_n-$, в которой n представляет целое число от 1 до 6.

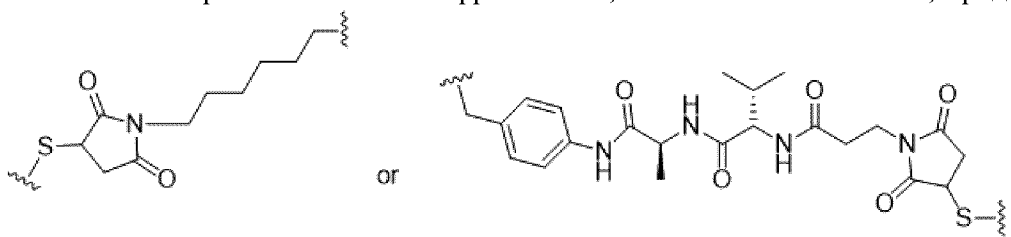
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, где n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является β -аманитин. В некоторых вариантах осуществления β -аманитин представляет соединение формулы I. В некоторых вариантах осуществления α -аманитин представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления β -аманитин формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с β -аманитином формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R^1 - R^9) с получением конъюгата β -аманитин-линкер формулы I, IA, IB, II, IIA или IIB. В некоторых

вариантах осуществления линкер соединен в позиции R¹. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R². В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R³. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁴. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁵. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁶. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁷. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁸. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁹. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

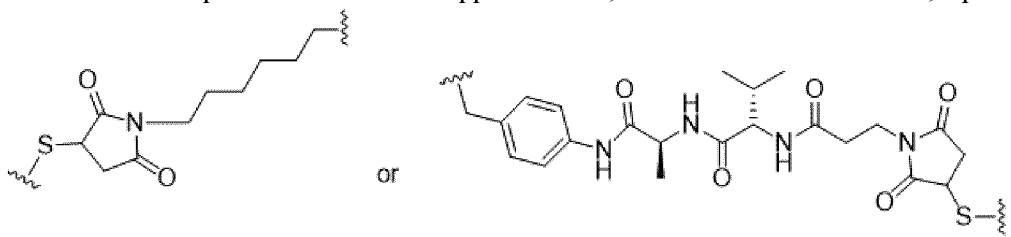
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(\text{CH}_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-\text{PAB-Cit-Val}-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-\text{PAB-Ala-Val}-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является γ -аманитин. В некоторых вариантах осуществления γ -аманитин представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления γ -аманитин формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с γ -аманитином формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R¹-R⁹) с получением конъюгата γ -аманитин-линкер формулы I, IA, IB, II, IIА или IIВ. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R¹. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R². В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R³. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁴. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁵. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁶. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁷. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁸. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁹. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления

линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-((C=O)(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

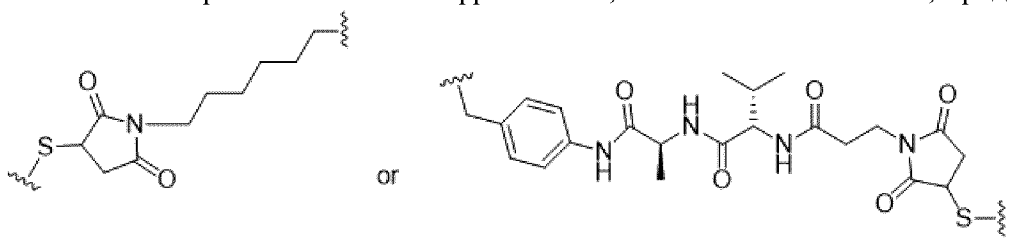
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является ϵ -аманитин. В некоторых вариантах осуществления ϵ -аманитин представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления ϵ -аманитин формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с ϵ -аманитином формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R^1 - R^9) с получением конъюгата ϵ -аманитин-линкер формулы I, IA, IB, II, IIА или IIВ. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^1 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^2 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^3 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^4 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^5 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^6 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^7 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^8 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^9 . В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-((C=O)(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

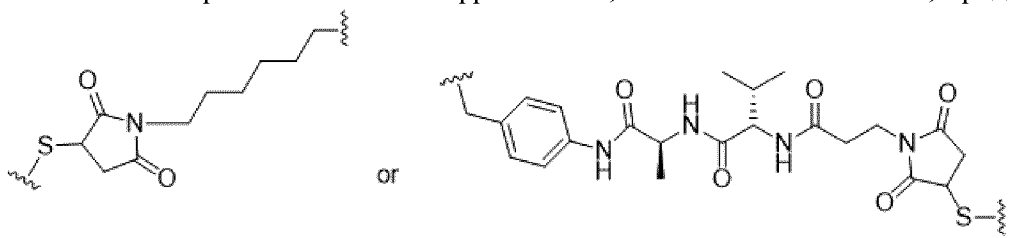
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления

линкер представляет собой $\text{-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH}_2)_n\text{-}$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является аминин. В некоторых вариантах осуществления аминин представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления аминин формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с аминином формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R^1 - R^9) с получением конъюгата аминин-линкер формулы I, IA, IB, II, IIА или IIВ. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^1 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^2 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^3 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^4 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^5 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^6 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^7 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^8 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^9 . В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиозфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $\text{-((C=O)(CH}_2)_n\text{-}$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

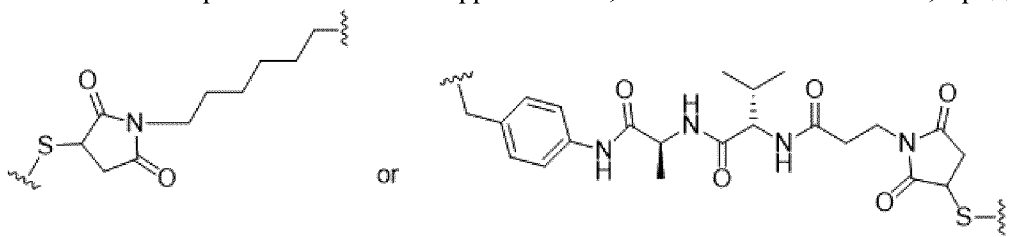
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $\text{-(CH}_2)_n\text{-}$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $\text{-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH}_2)_n\text{-}$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $\text{-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH}_2)_n\text{-}$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является аминамид. В некоторых вариантах осуществления аминамид представляет соединение формулы III. В

некоторых вариантах осуществления аминамид формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с аминамидом формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R^1 - R^9) с получением конъюгата аминамид-линкер формулы I, IA, IB, II, IIA или IIB. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^1 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^2 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^3 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^4 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^5 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^6 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^7 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^8 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^9 . В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-((C=O)(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

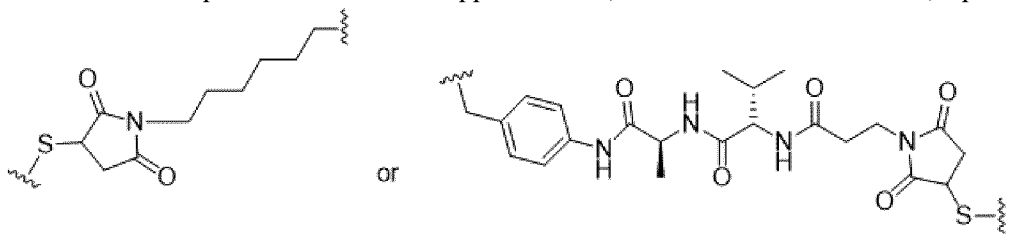
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является амануллин. В некоторых вариантах осуществления амануллин представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления амануллин формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с амануллином формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R^1 - R^9) с получением конъюгата амануллин-линкер формулы I, IA, IB, II, IIA или IIB. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^1 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^2 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^3 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^4 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^5 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^6 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^7 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^8 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^9 .

вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁷. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁸. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁹. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

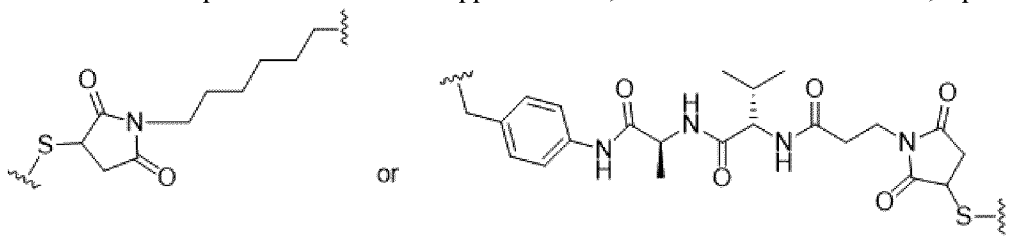
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(\text{CH}_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-\text{PAB-Cit-Val}-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-\text{PAB-Ala-Val}-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является амануллиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления амануллиновая кислота представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления амануллиновая кислота формулы III соединена с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с амануллиновой кислотой формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R¹-R⁹) с получением конъюгата амануллиновая кислота-линкер формулы I, IA, IB, II, IIА или IIВ. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R¹. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R². В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R³. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁴. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁵. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁶. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁷. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁸. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R⁹. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$, в котором n

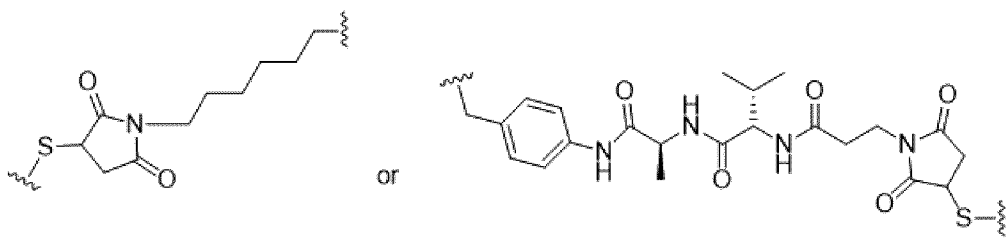
представляет целое число от 1 до 6.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



В некоторых вариантах осуществления цитотоксином является проамануллин. В некоторых вариантах осуществления проамануллин представляет соединение формулы III. В некоторых вариантах осуществления проамануллин формулы III соединен с антителом против CD117 посредством линкера L. Линкер L можно соединить с проамануллином формулы III в любой одной из нескольких возможных позиций (например, в любой из R^1 - R^9) с получением конъюгата проамануллин-линкер формулы I, IA, IB, II, IIA или IIB. В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^1 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^2 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^3 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^4 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^5 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^6 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^7 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^8 . В некоторых вариантах осуществления линкер соединен в позиции R^9 . В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиоэфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(C=O)(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



Методы синтеза с получением аматоксина описаны в патенте США № 9676702, который включен в настоящий документ посредством ссылки.

Антитела или антигенсвязывающие фрагменты для использования с композициями и способами, описанными в данном документе, можно конъюгировать с аматоксином, таким как α -аманитин или его варианты, с использованием методов конъюгации, известных в данной области или описанных в данном документе. Например, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые распознают и связывают CD117 (такой как GNNK+ CD117), можно конъюгировать с аматоксином, таким как α -аманитин или его варианты, как описано в US 2015/0218220, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки, так как он относится, например, к аматоксинам, таким как α -аманитин и его варианты, а также к ковалентным линкерам, которые можно использовать для ковалентной конъюгации.

Иллюстративные конъюгаты антитело-лекарственное средство, используемые в сочетании со способами, описанными в данном документе, можно получить с помощью реакции антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с аматоксином, который конъюгирован с линкером, содержащим заместитель, подходящий для реакции с реакционноспособным остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте. Аматоксины, которые конъюгированы с линкером, содержащим заместитель, подходящий для реакции с реакционноспособным остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, описанном в данном документе, включают, но без ограничения, 7'C-(4-(6-(maleimido)hexanoate)piperazine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(6-(maleimido)hexanamide)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(6-(6-(maleimido)hexanamide)hexanoate)piperazine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(4-((maleimido)methyl)cyclohexanecarbonyl)piperazine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(6-(4-((maleimido)methyl)cyclohexanecarboxamide)hexanoate)piperazine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(6-(maleimido)hexanamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(6-(maleimido)hexanamide)hexanamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(4-((maleimido)methyl)cyclohexanecarboxamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(6-(4-((maleimido)methyl)cyclohexanecarboxamide)hexanamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(3-carboxypropanamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(2-bromoacetamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(3-(pyridin-2-yl)disulfanylyl)propanamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(4-(maleimido)butanamide)ethyl)piperidine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(2-(maleimido)acetyl)piperazine-1-yl)-antatoxin; 7'C-(4-(3-(maleimido)propanoate)piperazine-1-yl)-antatoxin;

(малеимидо)бутаноил)пиперазин-1-ил)-аматоксин; 7'C-(4-(2-(6-(4-
 ((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)этил)пиперидин-1-ил)-
 аматоксин; 7'C-(3-((6-(малеимидо)гексанамидо)метил)пирролидин-1-ил)-аматоксин; 7'C-
 (3-((6-(6-(малеимидо)гексанамидо)гексанамидо)метил)пирролидин-1-ил)-аматоксин; 7'C-
 (3-((4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)метил)пирролидин-1-ил)-аматоксин;
 7'C-(3-((6-((4-
 (малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)метил)пирролидин-1-ил)-
 аматоксин; 7'C-(4-(2-(6-(2-(аминоокси)ацетамидо)гексанамидо)этил)пиперидин-1-ил)-
 аматоксин; 7'C-(4-(2-(4-(2-(аминоокси)ацетамидо)бутанамидо)этил)пиперидин-1-ил)-
 аматоксин; 7'C-(4-(4-(2-(аминоокси)ацетамидо)бутаноил)пиперазин-1-ил)-аматоксин; 7'C-
 (4-(6-(2-(аминоокси)ацетамидо)гексаноил)пиперазин-1-ил)-аматоксин; 7'C-((4-(6-
 (малеимидо)гексанамидо)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(6-
 (малеимидо)гексанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(6-
 (малеимидо)гексаноил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; (R)-7'C-((3-((6-
 (малеимидо)гексанамидо)метил)пирролидин-1-ил)метил)-аматоксин; (S)-7'C-((3-((6-
 (малеимидо)гексанамидо)метил)пирролидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(6-(6-
 (малеимидо)гексанамидо)гексанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-
 (4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин;
 7'C-((4-(2-(6-(4-
 ((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-
 аматоксин; 7'C-((4-(2-(6-(малеимидо)гексанамидо)этил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин;
 7'C-((4-(2-(6-(6-(малеимидо)гексанамидо)гексанамидо)этил)пиперазин-1-ил)метил)-
 аматоксин; 7'C-((4-(2-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)этил)пиперазин-1-
 ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(6-(4-
 ((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)этил)пиперазин-1-ил)метил)-
 аматоксин; 7'C-((3-((6-(6-(малеимидо)гексанамидо)гексанамидо)-S-метил)пирролидин-1-
 ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-((6-(6-(малеимидо)гексанамидо)гексанамидо)-R-
 метил)пирролидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-((4-
 ((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)-S-метил)пирролидин-1-ил)метил)-
 аматоксин; 7'C-((3-((4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)-R-
 метил)пирролидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-((6-(4-
 ((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)метил)пирролидин-1-
 ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(3-карбокситпропанамидо)этил)пиперазин-1-ил)метил)-
 аматоксин; 7'C-((4-(6-(6-(малеимидо)гексанамидо)гексаноил)пиперазин-1-ил)метил)-
 аматоксин; 7'C-((4-(6-(4-
 ((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексаноил)пиперазин-1-ил)метил)-
 аматоксин; 7'C-((4-(2-(малеимидо)ацетил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(3-
 (малеимидо)пропаноил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(4-
 (малеимидо)бутаноил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(2-
 (малеимидо)ацетамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(4-

(малеимидо)бутанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(6-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-((6-(малеимидо)гексанамидо)метил)азетидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-(2-(6-(малеимидо)гексанамидо)этил)азетидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-((4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)метил)азетидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-(2-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)этил)азетидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((3-(2-(6-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)этил)азетидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-(((2-(6-(малеимидо)-N-метилгексанамидо)этил)(метил)амино)метил)-аматоксин; 7'C-(((4-(6-(малеимидо)-N-метилгексанамидо)бутил)(метил)амино)метил)-аматоксин; 7'C-((2-(2-(6-(малеимидо)гексанамидо)этил)азиридин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((2-(2-(6-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)этил)азиридин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(6-(6-(2-(аминоокси)ацетамидо)гексанамидо)гексаноил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(1-(аминоокси)-2-оксо-6,9,12,15-тетраокса-3-азагептадекан-17-оил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(2-(аминоокси)ацетамидо)ацетил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(3-(2-(аминоокси)ацетамидо)пропаноил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(4-(2-(аминоокси)ацетамидо)бутаноил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(6-(2-(аминоокси)ацетамидо)гексанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(2-(2-(аминоокси)ацетамидо)ацетамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(4-(2-(аминоокси)ацетамидо)бутанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(20-(аминоокси)-4,19-диоксо-6,9,12,15-тетраокса-3,18-диазаикозил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-(((2-(6-(2-(аминоокси)ацетамидо)-N-метилгексанамидо)этил)(метил)амино)метил)-аматоксин; 7'C-(((4-(6-(2-(аминоокси)ацетамидо)-N-метилгексанамидо)бутил)(метил)амино)метил)-аматоксин; 7'C-((3-((6-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)метил)пирролидин-1-ил)-S-метил)-аматоксин; 7'C-((3-((6-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексанамидо)-R-метил)пирролидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(2-бромацетамидо)этил)пиперазин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(2-бромацетамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 7'C-((4-(2-(3-(пиридине-2-илдисульфанил)пропанамидо)этил)пиперидин-1-ил)метил)-аматоксин; 6'O-(6-(6-(малеимидо)гексанамидо)гексил)-аматоксин; 6'O-(5-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)пентил)-аматоксин; 6'O-(2-((6-(малеимидо)гексил)окси)-2-оксоэтил)-аматоксин; 6'O-((6-(малеимидо)гексил)карбамоил)-аматоксин; 6'O-((6-(4-((малеимидо)метил)циклогексанкарбоксамидо)гексил)карбамоил)-аматоксин; 6'O-(6-(2-бромацетамидо)гексил)-аматоксин; 7'C-(4-(6-(азидо)гексанамидо)пиперидин-1-ил)-аматоксин; 7'C-(4-(гекс-5-иноиламино)пиперидин-1-ил)-аматоксин; 7'C-(4-(2-(6-(малеимидо)гексанамидо)этил)пиперазин-1-ил)-аматоксин; 7'C-(4-(2-(6-(6-(малеимидо)гексанамидо)гексанамидо)этил)пиперазин-1-ил)-аматоксин;

6'О-(6-(6-(11,12-дидегидро-5,6-дигидро-добенз[b, f]азоцин-5-ил)-6-оксогексанамидо)гексил)-аматоксин; 6'О-(6-(гекс-5-иноиламино)гексил)-аматоксин; 6'О-(6-(2-(аминоокси)ацетиламидо)гексил)-аматоксин; 6'О-((6-аминоокси)гексил)-аматоксин; и 6'О-(6-(2-иодоацетиламидо)гексил)-аматоксин. Вышеупомянутые линкеры, среди прочего, используемые в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе, описаны, например, в публикации заявки на получение патента США № 2015/0218220, раскрытие которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

Дополнительные цитотоксины, подходящие для использования с композициями и способами, описанными в данном документе, среди прочего, включают, но без ограничения, 5-этинилурацил, абиратерон, ацилфулвен, адещипенол, адозелезин, алдеслейкин, алтретамин, амбамустин, амидокс, амифостин, аминоклевулиновую кислоту, амрубицин, амсакрин, анагрелид, анастрозол, андрографолид, ингибиторы ангиогенеза, антареликс, анти-дорсализующий морфогенетический белок-1, антиандроген, цитотоксин карциномы предстательной железы, антиэстроген, антинеопластон, антисмысловые олигонуклеотиды, афидиколлин глицинат, модуляторы гена апоптоза, регуляторы апоптоза, апуриновую кислоту, асулакрин, атаместан, атримустин, аксинастатин 1, аксинастатин 2, аксинастатин 3, азасетрон, азатоксин, азатиридин, производные баккатина III, баланол, батимастат, антагонисты BCR/ABL, бензохлорины, бензоилстауроспорин, производные бета-лактама, бета-алетин, бетакламицин В, бетулиновую кислоту, ингибиторы bFGF, бикалутамид, бизантрин, бисазиридирилспермин, биснафид, бистратен А, бизелезин, брэфлат, блеомицин А2, блеомицин В2, бропиримин, будотитан, бутионин, сульфоксимин, кальципотриол, калфостин С, производные камптотецина (например, 10-гидроксикамптотецин), капецитабин, карбоксамида-амино-триазол, карбоксиамидотриазол, карцелезин, ингибиторы казеинкиназы, кастаноспермин, цекропин В, цетрореликс, хлорины, хлорхиноксалиния сульфонамид, цикапрост, цис-порфирина, кладрибин, кломифен и его аналоги, клотримазол, коллисмидин А, коллисмидин В, комбретастатин А4, аналоги комбретастатина, конагенин, крамбесцидин 816, криснатол, криптофицин 8, производные криптофицина А, курацин А, циклопентантрахиноны, циклоплатам, ципемидин, цитарабин оксифосфат, цитолитический фактор, цитостатин, дакликсимаб, децитабин, дегидродидемнин В, 2-дезоксикоформицин (DCF), деслорелин, дексифосфамид, дексразоксан, дексерапамил, диазиквон, дидемнин В, дидокс, диэтилнорспермин, дигидро-5-азацитидин, дигидротаксол, диоксамицин, дифенил спиромустин, дискодермолит, докозанол, доласетрон, доксифлуридин, дролоксифен, дронабинол, дуокармицин SA, эбселен, экомустин, эделфосин, эдрекломаб, эфлорнитин, элемен, эмитефур, эпотилоны, эпителины, эпиристерид, эстрамустин и его аналоги, этопозид, этопозид 4'-фосфат (также называемый этопофос), экземестан, фадрозол, фазарабин, фенретирид, филграстин, финастерид, флавопиридол, флезеластин, флаустерон, флюдарабин, фтордаунорунин гидрохлорид, форфенимекс, форместан, фостриecin, фотемустин, гадолиний текзафирин, нитрат галлия, галоцитабин, ганиреликс, ингибиторы желатиназы, гемцитабин, ингибиторы глутатиона, гепсульфам,

гомогаррингтонин (ННТ), гиперин, ибандроновую кислоту, идоксифен, идрамантон, илмофосин, иломастат, имидазоакридоны, имиквимод, иммуностимулирующие пептиды, йобенгуан, йододоксорибицин, ипомеанол, иринотекан, ироплакт, ирсогладин, изобенгазол, джасплакинолид, кахалалид F, ламелларин-N триацетат, ланреотид, лейнамицин, ленограстим, лентинан сульфат, лептолстатин, летрозол, липофильные соединения платины, лиссоклинамид 7, лобаплатин, лометрексол, лонидамин, лозоксантрон, локсорибин, луртотекан, лютеций тексафирин, лизофиллин, мазопрокол, маспин, ингибиторы матричной металлопротеиназы, меногарил, мербарон, метерелин, метиониназу, метоклопрамид, ингибитор MIF, ифепристон, мильтефозин, миримостим, митрацин, митогуазон, митолактол, митомицин и его аналоги, митонафид, митоксантрон, мофаротен, молграмостим, микапероксид B, мирапаторн, N-ацетилдиналин, N-замещенные бензамиды, нафарелин, нагрестип, напавин, нафтерпин, нартограстим, недаплатин, неморубицин, неридроновую кислоту, нилутамид, низамицин, нитруллин, октреотид, окиценон, онапристон, ондансетрон, орацин, ормаплатин, оксалиплатин, оксауномицин, паклитаксел и его аналоги, палауамин, пальмитоилризоксин, памидроновую кислоту, панакситриол, паномифен, парабактин, пазеллиптин, пегаспаргазу, пелдезин, пентозан полисульфат натрий, пентостатин, пентрозол, перфлуброн, перфосфамид, феназиномицин, пицибанил, пирарубицин, пиритрексим, подофиллотоксин, порфирамицин, ингибиторы пуринов-нуклеозидфосфорилазы, ралтитрексед, ризоксин, роглетимид, рохитукин, рубигинон B1, рубоксил, сафигнол, саинтопин, саркофитол A, сарграмостим, собузоксан, сонермин, спарфосовую кислоту, спикамицин D, спирумустин, стипиамид, сульфинозин, таллимустин, тегафур, темозоламид, тенипозид, талибластин, тиокоралин, тирапазамин, топотекан, топсентин, трицирибин, триметрексам, верамин, винорелбин, винксалтин, ворозол, зениплатин и зиласкорб.

Линкеры для химической конъюгации

Для конъюгирования антител или антигенсвязывающих фрагментов, которые описаны в данном документе, например, антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые распознают и связывают CD117 (такой как GNNK+ CD117), с цитотоксичной молекулой можно использовать множество линкеров.

Термин «Линкер» в рамках настоящего изобретения означает двухвалентный химический фрагмент, содержащий ковалентную связь или цепь атомов, которые ковалентно соединяют антитело или его фрагмент (Ab) с фрагментом лекарственного средства (D) с образованием конъюгатов антитело-лекарственное средство согласно настоящему раскрытию (ADC; Ab-Z-L-D, где D представляет цитотоксин). Подходящие линкеры имеют два реакционноспособных конца, один для конъюгации с антителом, а другой для конъюгации с цитотоксином. Реакционноспособный конец линкера (реакционноспособный фрагмент, Z) для конъюгации с антителом обычно представляет собой участок, способный конъюгировать с антителом через аминокислотную группу цистеинтиола или лизина на антителе, и поэтому обычно представляет собой тиол-реактивную группу, такую как двойная связь (как в малеимиде), или замещаемую группу, такую как хлор, бром,

иод или R-сульфанильная группа, или амин-реактивную группу, такую как карбоксильная группа; хотя реакционноспособный конец линкера для конъюгации с антителом обычно представляет собой участок, способный конъюгировать с цитотоксином через образование амидной связи с основной амино или карбоксильной группой на цитотоксине, и поэтому обычно представляет собой карбоксильную или основную аминогруппу. При использовании термина «линкер» в описании линкера в конъюгированной форме один или оба реакционноспособных конца будут отсутствовать (например, реакционноспособный фрагмент Z, преобразованный в химический фрагмент Z) или будут неполными (например, имея только карбонил карбоновой кислоты) вследствие образования связей между линкером и/или цитотоксином и между линкером и/или антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. Такие реакции конъюгации дополнительно описаны в данном документе ниже.

В некоторых вариантах осуществления линкер расщепляется во внутриклеточных условиях, так что расщепление линкера высвобождает во внутриклеточной среде звено лекарственного средства из антитела. В других вариантах осуществления звено линкера не расщепляется, и лекарственное средство высвобождается, например, за счет распада антитела. Линкеры, используемые для настоящих ADC, предпочтительно являются стабильными во внеклеточных условиях, предотвращают агрегацию молекул ADC и сохраняют ADC свободно растворимым в водной среде и в мономерном состоянии. Перед транспортировкой или доставкой в клетку ADC предпочтительно является стабильным и остается интактным, то есть антитело остается связанным с фрагментом лекарственного средства. Линкеры являются стабильными за пределами клетки-мишени, и их можно расщеплять с некоторой эффективной скоростью внутри клетки. эффективный линкер должен: (i) сохранять свойства специфического связывания антитела; (ii) обеспечивать внутриклеточную доставку конъюгата или фрагмента лекарственного средства; (iii) оставаться стабильным и интактным, то есть не расщепляться до доставки или транспортировки конъюгата к его целевому участку; и (iv) сохранять цитотоксическое, уничтожающее клетки действие или цитостатический эффект цитотоксичного фрагмента. Стабильность ADC можно измерять с помощью стандартных аналитических методов, таких как масс-спектропия, HPLC и метод LC/MS разделения/анализа. Для ковалентного соединения антитела и фрагмента лекарственного средства необходимо, чтобы линкер имел две реакционноспособные функциональные группы, то есть был бивалентным в смысле реакционноспособности. Бивалентные линкерные реагенты, которые используют для соединения двух или более функциональных или биологически активных фрагментов, таких как пептиды, нуклеиновые кислоты, лекарственные вещества, токсины, антитела, гаптены и репортерные группы, известны, и описаны способы получения их конъюгатов (Hermanson, G. T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, p. 234-242).

Линкеры включают в себя линкеры, которые можно расщеплять, например, с помощью ферментативного гидролиза, протолиза, гидролиза в кислых условиях, гидролиза в щелочных условиях, окисления, дисульфидного восстановления, нуклеофильного

расщепления или органометаллического расщепления (см., например, Leriche et al. *Bioorg. Med. Chem.* 20:571-582, 2012, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к линкерам, подходящим для ковалентной конъюгации).

Линкеры, гидролизующиеся в кислых условиях, включают, например, гидразоны, семикарбазоны, тиосемикарбазоны, цис-аконитовые амиды, ортоэфир, ацетали, кетали и тому подобное. (См., например, патенты США №№ 5122368; 5824805; 5622929; Dubowchik и Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123; Neville et al. 1989, *Biol. Chem.* 264:14653-14661, раскрытие каждого из которых полностью включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к линкерам, подходящим для ковалентной конъюгации. Такие линкеры являются относительно стабильными в нейтральных условиях pH, таких как условия в крови, но являются нестабильными при pH ниже 5,5 или 5,0, приблизительно pH лизосомы.

Линкеры, расщепляемые в восстанавливающих условиях, включают, например, дисульфид. В данной области известно множество дисульфидных линкеров, включая, например, те, которые можно получать с использованием SATA (N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетат), SPDP (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат), SPDB (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)бутират) и SMPT (N-сукцинимидил-оксикарбонил-альфа-метил-альфа-(2-пиридил-дитио)толуен), SPDB и SMPT (см., например, Thorpe et al. 1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931; Wawrzynczak et al. In *Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel ed. Oxford U. Press, 1987. См. Также патент США № 4880935, раскрытие каждого из которых полностью включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к линкерам, подходящим для ковалентной конъюгации.

Дополнительные линкеры, подходящие для синтеза конъюгатов лекарственное средство-антитело, которые описаны в данном документе, включают те, что способны высвобождать цитотоксин в процессе 1,6-элиминирования («саморасщепляющейся» группы), такой как p-аминобензиловый спирт (PABC), p-аминобензил (PAB), 6-малеимидогексановая кислота, чувствительные к pH карбонаты и другие реагенты, описанные в Jain et al. *Pharm. Res.* 32:3526-3540, 2015, раскрытие которого полностью включено в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит саморасщепляющуюся группу, такую как упомянутая выше PAB или PABC (парааминобензилоксикарбонил), которые раскрыты, например, в Carl et al. *J. Med. Chem.* (1981) 24:479-480; Chakravarty et al (1983) *J. Med. Chem.* 26:638-644; US 6214345; US20030130189; US20030096743; US6759509; US20040052793; US6218519; US6835807; US6268488; US20040018194; W098/13059; US20040052793; US6677435; US5621002; US20040121940; W02004/032828). Другие такие химические фрагменты, допускающие этот процесс («саморасщепляющиеся линкеры»), включают метилкарбаматы и гетероарильные группы, такие как аминотиазолы, аминимидазолы, аминопиримидины и тому подобное. Линкеры, содержащие такие

гетероциклические саморасщепляющиеся группы, раскрыты, например, в публикациях патентов США №№ 20160303254 и 20150079114 и патенте США № 7754681; Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237; US 2005/0256030; de Groot et al (2001) J. Org. Chem. 66:8815-8830; и US 7223837.

Линкерами, чувствительными к ферментативному гидролизу, могут быть, например, пептидсодержащий линкер, который расщепляется внутриклеточным ферментом пептидаза или протеаза, включая, но без ограничения, лизосомальную или эндосомальную протеазу. Одно преимущество использования внутриклеточного протеолитического высвобождения терапевтического средства состоит в том, что при конъюгировании средство обычно ослабляется, а стабильность конъюгатов в сыворотке обычно высокая. В некоторых вариантах осуществления пептидильный линкер имеет в длине по меньшей мере две аминокислоты или по меньшей мере три аминокислоты. Иллюстративные аминокислотные линкеры содержат дипептид, трипептид, тетрапептид или пентапептид. Примеры подходящих пептидов включают пептиды, которые содержат такие аминокислоты, как Валин, Аланин, Цитруллин (Cit), Фенилаланин, Лизин, Лейцин и Глицин. Аминокислотные остатки, которые содержат аминокислотный линкерный компонент, включают встречающиеся в природе остатки, а также небольшие аминокислоты и не встречающиеся в природе аналоги аминокислот, такие как цитруллин. Иллюстративные дипептиды включают валин-цитруллин (vc или val-cit) и аланин-фенилаланин (af или ala-phe). Иллюстративные трипептиды включают глицин-валин-цитруллин (gly-val-cit) и глицин-глицин-глицин (gly-gly-gly). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, такой как Val-Cit, Ala-Val или Phe-Lys, Val-Lys, Ala-Lys, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Phe-Arg или Trp-Cit. Линкеры, содержащие дипептиды, такие как Val-Cit или Phe-Lys, раскрыты, например, в патенте США № 6214345, раскрытие которого полностью включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к линкерам, подходящим для ковалентной конъюгации. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемые из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления дипептид используют в комбинации с саморасщепляющимся линкером.

Линкеры, подходящие для использования в данном документе, дополнительно могут включать одну или несколько групп, выбираемых из C₁-C₆ алкилена, C₁-C₆ гетероалкилена, C₂-C₆ алкенилена, C₂-C₆ гетероалкенилена, C₂-C₆ алкинилена, C₂-C₆ гетероалкинилена, C₃-C₆ циклоалкилена, гетероциклоалкилена, арилена, гетероарилена и их комбинаций, каждый из которых может быть необязательно замещен. Не ограничивающие примеры таких групп включают звенья (CH₂)_n, (CH₂CH₂O)_n и -(C=O)(CH₂)_n-, в которых n представляет целое число от 1 до 6, независимо выбираемое для каждого случая.

В некоторых вариантах осуществления линкер может содержать один или несколько элементов из гидразина, дисульфида, тиоэфира, дипептида, p-аминобензильной (РАВ) группы, гетероциклической саморасщепляющейся группы, необязательно замещенного C₁-C₆ алкила, необязательно замещенного C₁-C₆ гетероалкила, необязательно замещенного C₂-

C_6 алкенила, необязательно замещенного C_2 - C_6 гетероалкенила, необязательно замещенного C_2 - C_6 алкинила, необязательно замещенного C_2 - C_6 гетероалкинила, необязательно замещенного C_3 - C_6 циклоалкила, необязательно замещенного гетероциклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного гетероарила, ацила, группы $-(C=O)-$ или $-(CH_2CH_2O)_n-$, в которой n представляет целое число от 1 до 6. Специалисту в данной области должно быть понятно, что одна или несколько перечисленных групп могут иметься в виде бивалентных (двухрадикальных) форм, например, C_1 - C_6 алкилена и тому подобное.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит р-аминобензильную группу (PAB). В одном варианте осуществления р-аминобензильная группа находится между цитотоксичным лекарственным средством и участком расщепления протеазой в линкере. В одном варианте осуществления р-аминобензильная группа составляет часть р-аминобензилоксикарбонильного звена. В одном варианте осуществления р-аминобензильная группа составляет часть звена р-аминобензиламида.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит PAB, Val-Cit-PAB, Val-Ala-PAB, Val-Lys(Ac)-PAB, Phe-Lys-PAB, Phe-Lys(Ac)-PAB, D-Val-Leu-Lys, Gly-Gly-Arg, Ala-Ala-Asn-PAB или Ala-PAB.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит комбинацию одного или нескольких элементов из пептида, олигосахарида, $-(CH_2)_n-$, $-(CH_2CH_2O)_n-$, PAB, Val-Cit-PAB, Val-Ala-PAB, Val-Lys(Ac)-PAB, Phe-Lys-PAB, Phe-Lys(Ac)-PAB, D-Val-Leu-Lys, Gly-Gly-Arg, Ala-Ala-Asn-PAB или Ala-PAB.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(C=O)(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6.

В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6.

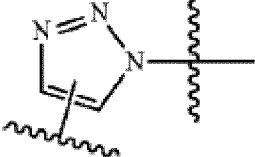
Линкеры, которые можно использовать для конъюгирования антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с цитотоксичным средством, включают те, что ковалентно связаны с цитотоксичным средством на одном конце линкера, а на другом конце линкера содержат химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117). Реакционноспособные заместители, которые могут иметься внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (такой как GNNK+ CD117), включают, но без ограничения, гидроксильные фрагменты сериновых, треониновых и тирозиновых остатков; аминокислотные фрагменты лизиновых остатков; карбоксильные фрагменты остатков аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты; и тиольные фрагменты цистеиновых остатков, а также фрагменты пропаргил, азидо, галоарил (например, флуороарил), галогетероарил (например, флуорогетероарил), галоалкил и галогетероалкил не встречающихся в природе аминокислот.

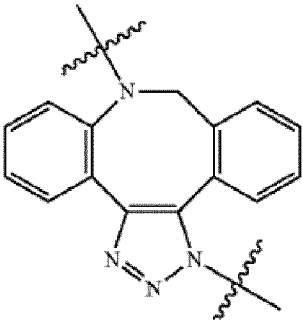
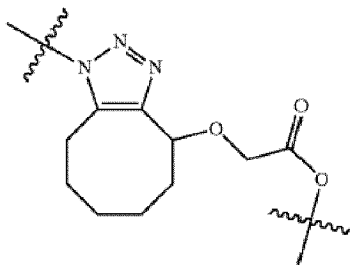
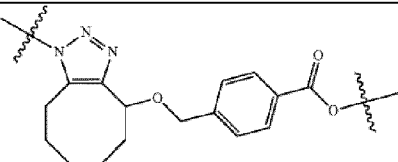
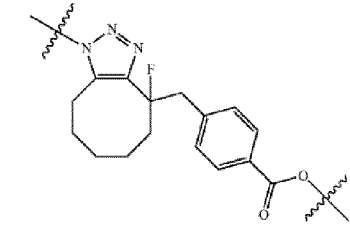
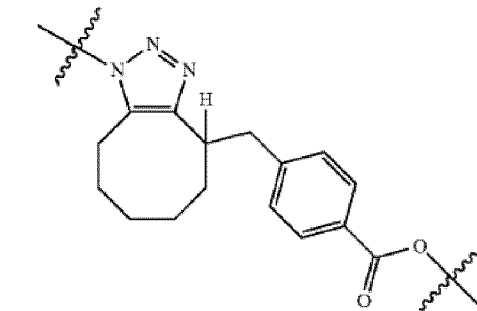
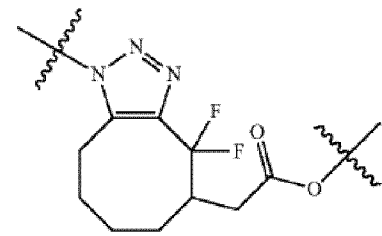
Примеры линкеров, используемых для синтеза конъюгатов лекарственное средство-антитело, включают те, которые содержат электрофилы, такие как, среди прочего, акцепторы Михаэля (например, малеимиды), активированные сложные эфиры, электрондефицитные карбонильные соединения и альдегиды, подходящие для реакции с нуклеофильными заместителями, имеющимися внутри антител или антигенсвязывающих фрагментов, такие как аминовые и тиольные фрагменты. Например, линкеры, подходящие для синтеза конъюгатов лекарственное средство-антитело, включают, среди прочего, но без ограничения, сукцинимидил 4-(N-малеимидметил)-циклогексан-L-карбоксилат (SMCC), N-сукцинимидил иодоацетат (SIA), сульфо-SMCC, сложный эфир m-малеимидбензоил-N-гидроксисукцинимидила (MBS), сульфо-MBS и сукцинимидил иодоацетат, описанные, например, в Liu et al. 18:690-697, 1979, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к линкерам для химической конъюгации. Дополнительные линкеры включают не расщепляемые малеимидкапроиловые линкеры, которые особенно полезны для конъюгации разрушающих микротрубочки средств, таких как ауристатины, описанные в Doronina et al. Bioconjugate Chem. 17:14-24, 2006, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки, так как оно относится к линкерам для химической конъюгации.

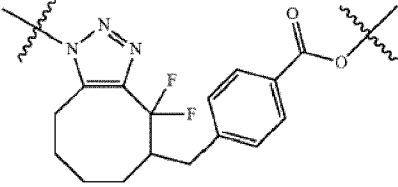
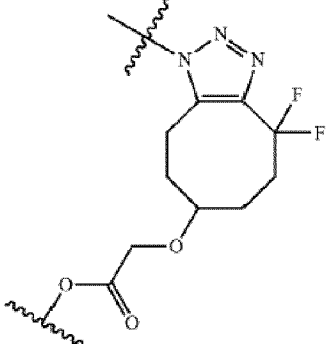
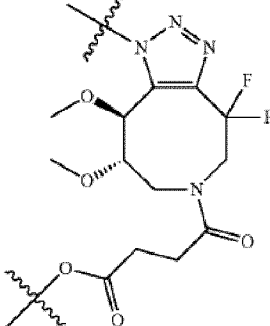
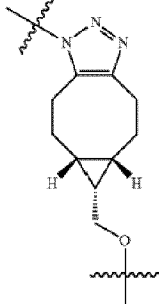
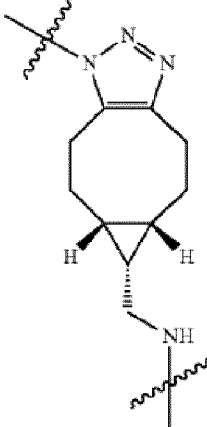
Специалисту в данной области должно быть понятно, что любую одну или несколько химических групп, фрагментов и признаков, раскрытых в данном документе, можно комбинировать множеством способов с образованием линкеров, используемых для конъюгации антител и цитотоксинов, которые раскрыты в данном документе. Дополнительные линкеры, используемые в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе, описаны, например, в публикации заявки на получение патента США № 2015/0218220, раскрытие которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

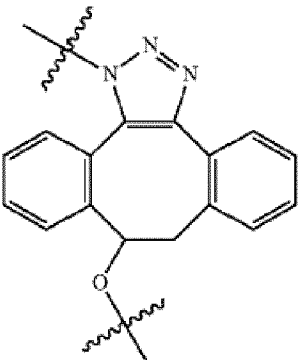
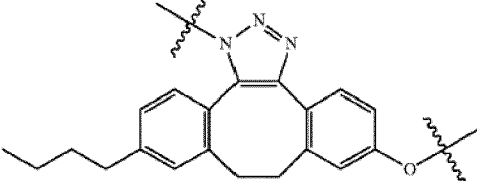
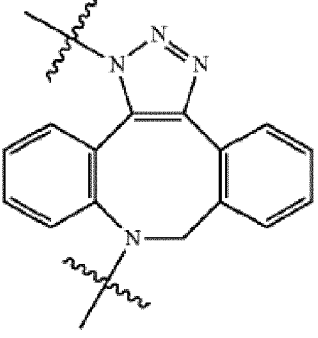
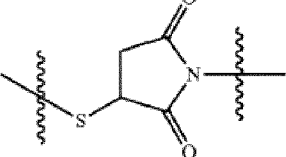
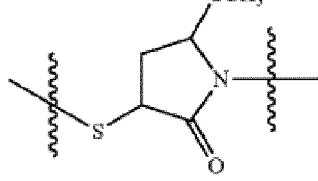
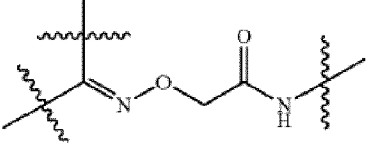
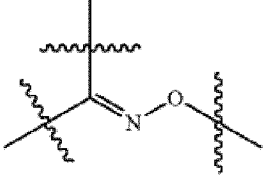
Линкеры, используемые в сочетании с конъюгатом антитело-лекарственное средство, описанным в данном документе, включают, но без ограничения, линкеры, содержащие химические фрагменты, образованные с помощью реакций соединения, которые представлены в таблице 3 ниже. Кривые линии обозначают места соединения с антителом или антигенсвязывающим фрагментом и цитотоксичной молекулой, соответственно.

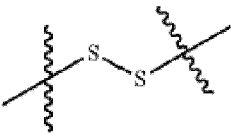
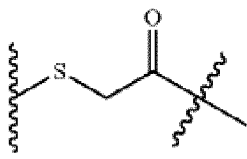
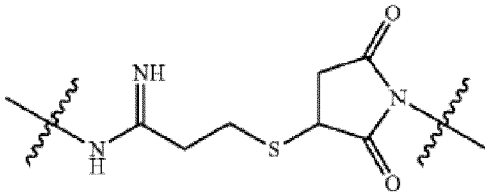
Таблица 3. Иллюстративные химические фрагменты Z, образованные с помощью реакций соединения при получении конъюгата антитела-лекарственное средство

Иллюстративные Реакции соединения	Химический Фрагмент Z, Образованный с помощью Реакций соединения
[3+2] Циклоприсоединение	

[3+2] Циклоприсоединение	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	

[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	

[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение, Эстерификация	
[3+2] Циклоприсоединение	
Присоединение Михаэля	
Присоединение Михаэля	
Конденсация иминов, Амидирование	
Конденсация иминов	

Образование дисульфидов	
Алкилирование тиолов	
Конденсация, Присоединение Михаэля	

Рядовому специалисту в данной области должно быть понятно, что реакционноспособный заместитель Z, соединенный с линкером, и реакционноспособный заместитель на антители или его антигенсвязывающем фрагменте соединяют с помощью реакции ковалентного соединения с получением химического фрагмента Z и будут распознавать реакционноспособный заместитель Z. Вследствие этого, конъюгаты антители-лекарственное средство, используемые в сочетании со способами, описанными в данном документе, можно получить с помощью реакции антителя или его антигенсвязывающего фрагмента с линкером или конъюгатом цитотоксин-линкер, как описано в данном документе, где линкер или конъюгат цитотоксин-линкер содержит реакционноспособный заместитель Z, подходящий для реакции с реакционноспособным заместителем на антители или его антигенсвязывающем фрагменте, с образованием химического фрагмента Z.

Как представлено в таблице 3, примеры подходящих реакционноспособных заместителей на линкере и антители или его антигенсвязывающем фрагменте включают пару нуклеофил/электрофил (например, среди прочего, пару тиол/галоалкил, пару амин/карбонил или пару тиол/ $\alpha\beta$ -ненасыщенный карбонил и тому подобное), пару диен/диенофил (например, пару азид/алкин или пару диен/ $\alpha\beta$ -ненасыщенный карбонил) и тому подобное. Реакции соединения между реакционноспособными заместителями с образованием химического фрагмента Z включают, но без ограничения, алкилирование тиола, алкилирование гидроксила, алкилирование амина, конденсацию амина или гидроксиламина, образование гидразина, амидирование, эстерификацию, образование дисульфидов, циклоприсоединение (например, среди прочего [4+2] циклоприсоединение по методу Дильса-Альдера, [3+2] циклоприсоединение по методу Хуисгена), нуклеофильное ароматическое замещение, электрофильное ароматическое замещение и другие методы проведения реакций, известные в данной области или описанные в данном документе. Предпочтительно, линкер содержит электрофильную функциональную группу для реакции с нуклеофильной функциональной группой на антители или его антигенсвязывающем фрагменте.

Реакционноспособные заместители, которые могут иметься внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые раскрыты в данном документе, включают, но без ограничения, нуклеофильные группы, такие как (i) N-концевые аминокислоты, (ii) аминокислоты боковой цепи, например, лизин, (iii) тиольные группы боковой цепи, например, цистеин и (iv) гидроксильные или аминокислоты сахаров, когда антитело гликозилировано. Реакционноспособные заместители, которые могут иметься внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые раскрыты в данном документе, включают, но без ограничения, гидроксильные фрагменты сериновых, треониновых и тирозиновых остатков; аминокислоты лизинового остатка; карбоксильные фрагменты остатков аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты; и тиольные фрагменты цистеиновых остатков, а также фрагменты пропаргил, азидо, галоарил (например, флуороарил), галогетероарил (например, флуорогетероарил), галоалкил и галогетероалкил не встречающихся в природе аминокислот. В некоторых вариантах осуществления реакционноспособные заместители, имеющиеся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые раскрыты в данном документе, включают, аминокислоты или тиольные фрагменты. Некоторые антитела имеют восстанавливаемые межцепочечные дисульфиды, то есть цистеиновые мостики. Антитела можно сделать реакционноспособными для конъюгации с линкерными реагентами путем обработки восстанавливающим средством, таким как DTT (дифионитрит). Каждый цистеиновый мостик, таким образом, теоретически будет образовывать два реакционноспособных тиольных нуклеофила. Дополнительные нуклеофильные группы можно вводить в антитело за счет реакции лизинов с 2-иминотиолом (реагентом Трота), которая приводит к преобразованию амина в тиол. Реакционноспособные тиольные группы можно вводить в антитело (или его фрагмент) путем введения одного, двух, трех, четырех или более цистеиновых остатков (например, с получением мутантных антител, содержащих один или несколько ненативных цистеиновых аминокислотных остатков). В патенте США № 7521541 изложено конструирование антител путем введения реакционноспособных цистеиновых аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления реакционноспособный фрагмент Z, соединенный с линкером, представляет нуклеофильную группу, которая может вступать в реакцию с электрофильной группой, имеющейся на антителе. Используемые электрофильные группы на антителе включают, но без ограничения, карбонильные группы альдегидов и кетонов. Гетероатом нуклеофильной группы может вступать в реакцию с электрофильной группой на антителе и образовывать ковалентную связь с антителом. Используемые нуклеофильные группы включают, но без ограничения, гидразид, оксим, аминокислоты, гидроксил, гидразин, тиосемикарбазон, гидразин карбоксилат и арилгидразид.

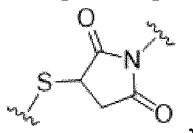
В некоторых вариантах осуществления Z является продуктом реакции между реакционноспособными нуклеофильными заместителями, имеющимися внутри антител или их антигенсвязывающих фрагментов, таких как аминокислоты и тиольные фрагменты, и реакционноспособным электрофильным заместителем Z. Например, Z может представлять,

среди прочего, акцептор Михаэля (например, малеимид), активированный сложный эфир, электрондефицитное карбонильное соединение или альдегид.

В некоторых вариантах осуществления ADC содержит антитело против CD117, конъюгированное с аматоксином согласно любой из формул I, IA, IB, II, IIА или IIВ, как раскрыто в данном документе, посредством линкера и химического фрагмента Z. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит гидразин, дисульфид, тиозфир или дипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит дипептид, выбираемый из Val-Ala и Val-Cit. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит парааминобензильную группу (PAB). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Cit-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит фрагмент PAB-Ala-Val. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено - $((C=O)(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 1 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой -PAB-Cit-Val- $((C=O)(CH_2)_n-$.

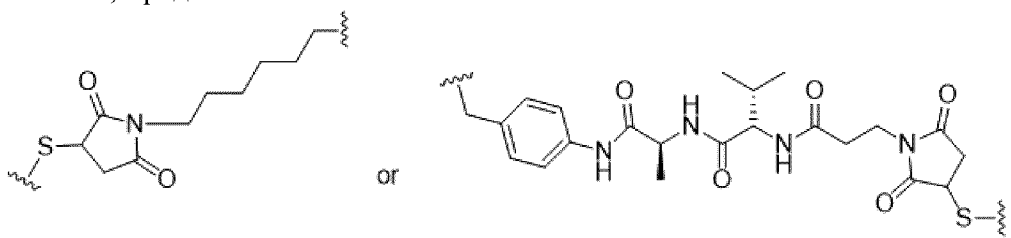
В некоторых вариантах осуществления линкер содержит звено $-(CH_2)_n-$, в котором n представляет целое число от 2 до 6. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой -PAB-Cit-Val- $((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой -PAB-Ala-Val- $((C=O)(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет $-(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет $-((CH_2)_n-$, в котором n составляет 6.

В некоторых вариантах осуществления химический фрагмент Z выбран из таблицы 3. В некоторых вариантах осуществления химический фрагмент Z представляет



где S представляет атом серы, который представляет реакционноспособный заместитель, имеющийся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает CD117 (например, из группы -SH цистеинового остатка).

В некоторых вариантах осуществления линкер L и химический фрагмент Z, взятые вместе как L-Z, представляют



Рядовому специалисту в данной области должно быть понятно, что структура группы линкер-реакционноспособный заместитель перед конъюгацией с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом содержит малеимид в качестве группы Z. Вышеупомянутые линкерные фрагменты и конъюгаты аматоксин-линкер, среди прочего, используемые в сочетании с композициями и способами, описанными в данном документе,

описаны, например, в публикации заявки на получение патента США № 2015/0218220 и публикации заявки на получение патента № WO2017/149077, раскрытие каждого из которых полностью включено в данный документ посредством ссылки.

Получение конъюгатов антитело-лекарственное средство

В ADC формулы I, которые раскрыты в данном документе, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгирован с одним или несколькими цитотоксичными фрагментами лекарственного средства (D), например, от приблизительно 1 до приблизительно 20 фрагментов лекарственного средства на антитело, через линкер L и химический фрагмент Z, которые раскрыты в данном документе. ADC согласно настоящему раскрытию можно получать несколькими путями с использованием реакций, условий и реагентов органической химии, известных специалистам в данной области, включая: (1) реакцию реакционноспособного заместителя антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с бивалентным линкерным реагентом с образованием Ab-Z-L, как описано в данном документе выше, с последующей реакцией с фрагментом D лекарственного средства; или (2) реакцию реакционноспособного заместителя фрагмента лекарственного средства с бивалентным линкерным реагентом с образованием D-L-Z с последующей реакцией с реакционноспособным заместителем антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, как описано в данном документе выше, с образованием ADC формулы D-L-Z-Ab, такого как Am-Z-L-Ab. В данном документе описаны дополнительные способы получения ADC.

В другом аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет один или несколько лизиновых остатков, которые можно химически модифицировать с введением одной или нескольких сульфидрильных групп. Затем ADC получают путем конъюгации через атом серы сульфидрильной группы, как описано в данном документе выше. Реагенты, которые можно использовать для модификации лизина, включают, но без ограничения, N-сукцинимидил S-ацетилтиоацетат (SATA) и 2-иминотиолан гидрохлорид (реагент Трота).

В другом аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может иметь одну или несколько углеводных групп, которые можно химически модифицировать, чтобы они имели одну или несколько сульфидрильных групп. Затем ADC получают путем конъюгации через атом серы сульфидрильной группы, как описано в данном документе выше.

В другом аспекте антитело может иметь одну или несколько углеводных групп, которые можно окислить с получением альдегидной (-CHO) группы (см., например, Laguzza, et al. *J. Med. Chem.* 1989, 32(3), 548-55). Затем ADC получают путем конъюгации через соответствующий альдегид, как описано в данном документе выше. Другие протоколы для модификации белков для соединения или ассоциации цитотоксинов описаны в Coligan et al., *Current Protocols in Protein Science*, vol. 2, John Wiley & Sons (2002), включенном в данный документ посредством ссылки.

Способы конъюгации фрагментов линкеров-лекарственных средств с белками-мишенями клетки, такими как антитела, иммуноглобулины или их фрагменты,

представлены, например, в патенте США № 5208020; патенте США № 6441163; WO2005037992; WO2005081711; и WO2006/034488, которые все полностью явным образом включены настоящим посредством ссылки.

Альтернативно, слияния белков, содержащих антитело и цитотоксичное средство, можно проделать, например, с помощью рекомбинантных методов или синтеза пептидов. По длине ДНК могут иметься соответствующие области, кодирующие две части конъюгата либо примыкающие друг к другу, либо разделенные областью, кодирующей линкерный пептид, который не нарушает желательные свойства конъюгата.

Способы Лечения

Как описано в данном документе, трансплантационную терапию гемопоэтическими стволовыми клетками можно применять для субъекта, нуждающегося в лечении, чтобы они заняли или повторно заняли место одного или нескольких типов клеток крови. Гемопоэтические стволовые клетки обычно демонстрируют мультипотентность и в связи с этим могут дифференцироваться во множество разных клеточных линий крови, включая, но без ограничения, гранулоциты (например, промиелоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), эритроциты (например, ретикулоциты, эритроциты), тромбоциты (например, мегакариобласты, продуцирующие кровяные пластинки мегакариоциты, кровяные пластинки), моноциты (например, моноциты, макрофаги), дендритные клетки, микроглии, остеокласты и лимфоциты (например, NK-клетки, В-клетки и Т-клетки). Гемопоэтические стволовые клетки, кроме того, способны самообновляться и в связи с этим могут давать дочерние клетки, которые обладают эквивалентным материнским клеткам потенциалом, а также отличаются способностью реинтродукции реципиенту с трансплантатом, после чего они занимают нишу гемопоэтических стволовых клеток и восстанавливают продуктивный и устойчивый гемопоэз.

Гемопоэтические стволовые клетки, таким образом, можно вводить пациенту с дефектом или недостатком одного или нескольких типов клеток гемопоэтической линии, чтобы восстанавливать дефектную или недостающую популяцию клеток *in vivo*, таким образом вылечивая патологию, связанную с дефектом или истощением популяции эндогенных клеток крови. Таким образом, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения не злокачественной гемоглобинопатии (например, гемоглобинопатии, выбираемой из группы, состоящей из серповидноклеточной анемии, талассемии, анемии Фанкони, апластической анемии и синдрома Вискотта-Олдрича). Дополнительно или альтернативно, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения иммунодефицита, такого как врожденный иммунодефицит. Дополнительно или альтернативно, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения приобретенного иммунодефицита (например, приобретенного иммунодефицита, выбираемого из группы, состоящей из ВИЧ и СПИД). Композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения нарушения обмена веществ (например, нарушения обмена веществ, выбираемого из группы, состоящей из болезни накопления гликогена, мукополисахаридозов, болезни

Гоше, болезни Гурлера, сфинголипидоза и метахроматической лейкодистрофии).

Дополнительно или альтернативно, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения злокачественного или пролиферативного заболевания, такого как гемобластоз, миелопролиферативное заболевание. В случае лечения рака композиции и способы, описанные в данном документе, можно вводить пациенту для истощения популяции эндогенных гемопоэтических стволовых клеток перед трансплантационной терапией гемопоэтическими стволовыми клетками, где в этом случае трансплантированные клетки могут попадать в нишу, создаваемую на этапе истощения эндогенных клеток, и устанавливать продуктивный гемопоэз. Это, в свою очередь, может восстанавливать популяцию клеток, истощенных во время уничтожения раковых клеток, например, во время системной химиотерапии. Иллюстративный гемобластоз, который можно лечить с использованием композиций и способов, описанных в данном документе, включает, но без ограничения, острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, множественную миелому, диффузную В-крупноклеточную лимфому и неходжкинскую лимфому, а также другие онкологические заболевания, включая нейробластому.

Дополнительные заболевания, которые можно лечить композициями и способами, описанными в данном документе, включают, но без ограничения, аденозиндезаминазную недостаточность и тяжелый комбинированный иммунодефицит, синдром гипериммуноглобулина М, болезнь Чедиака-Хигаши, наследственный лимфогистиоцитоз, остеопетроз, незавершенный остеогенез, болезни накопления, большую талассемию, системный склероз, системную красную волчанку, рассеянный склероз и ювенильный ревматоидный артрит.

Антитела, их антигенсвязывающие фрагменты и конъюгаты, описанные в данном документе, можно использовать, чтобы вызвать толерантность к трансплантации солидного органа. Например, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для истощения или удаления популяции клеток из ткани-мишени (например, для истощения гемопоэтических стволовых клеток в нише стволовых клеток костного мозга). После такого истощения клеток в тканях-мишенях реципиенту трансплантата можно вводить популяцию стволовых клеток или клеток-предшественников от донора органа (например, гемопоэтических стволовых клеток от донора органа), а после приживания таких стволовых клеток или клеток-предшественников может быть достигнут временный или стабильный смешанный химеризм, обеспечивая таким образом долгосрочную толерантность к трансплантируемому органу без потребности в дополнительных иммунодепрессивных средствах. Например, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать, чтобы вызвать толерантность к трансплантату у реципиента транспланта солидного органа (например, среди прочего, трансплантата почек, трансплантата легких, трансплантата печени и трансплантата сердца). Композиции и способы, описанные в данном документе, хорошо подходят для использования в сочетании с индукцией толерантности к трансплантату солидного органа,

например, потому что низкого процентного значения временного или стабильного приживления трансплантата достаточно, чтобы вызвать долгосрочную толерантность к трансплантированному органу.

Кроме того, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для непосредственного лечения рака, такого как рак, характеризующийся клетками, которые представляют собой CD117+. Например, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения лейкоза, особенно у пациентов, у которых имеются лейкозные клетки CD117+. Путем истощения раковых клеток CD117+, таких как лейкозные клетки, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для непосредственного лечения различных видов рака. Иллюстративный рак, который можно лечить таким образом, включает гемобластоз, такой как острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома и неходжкинская лимфома.

Острый миелоидный лейкоз (AML) представляет рак миелоидной линии клеток крови, характеризующийся быстрым ростом ненормальных белых клеток крови, которые скапливаются в костном мозге и мешают выработке нормальных клеток крови. AML представляет собой наиболее распространенный острый лейкоз, поражающий взрослых, и его частота с возрастом увеличивается. Симптомы AML обусловлены заменой нормального костного мозга лейкозными клетками, что является причиной падения количества красных клеток крови, кровяных пластинок и нормальных белых клеток крови. В виде острого лейкоза AML быстро прогрессирует и в отсутствие лечения может привести к летальному исходу в течение недель или месяцев. В одном варианте осуществления ADC против CD117, описанные в данном документе, используют для лечения AML у нуждающегося в этом пациента-человека. В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью ADC против CD117 истощает AML клетки у получающих лечение субъектов. В некоторых вариантах осуществления истощаются 50% или более AML клеток. В других вариантах осуществления истощаются 60% или более AML клеток, или истощаются 70% или более AML клеток, или истощаются 80% или более или 90% или более или 95% или более AML клеток. В некоторых вариантах осуществления лечением с помощью ADC против CD117 является лечение разовой дозой. В некоторых вариантах осуществления лечение разовой дозой ADC против CD117 истощает 60%, 70%, 80%, 90% или 95% или более AML клеток.

Кроме того, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения аутоиммунных заболеваний. Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить субъекту, такому как пациент-человек с аутоиммунным заболеванием, для уничтожения иммунных клеток CD117+. Иммунной клеткой CD117+ может быть аутореактивный лимфоцит, такой как Т-клетка, которая экспрессирует Т-клеточный рецептор, который специфически связывает аутоантиген и создает против него иммунный ответ. За счет истощения аутореактивных клеток CD117+ композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения

аутоиммунных патологий, таких как те, что описаны ниже. Дополнительно или альтернативно, композиции и способы, описанные в данном документе, можно использовать для лечения аутоиммунного заболевания путем истощения популяции эндогенных гемопоэтических стволовых клеток перед трансплантационной терапией гемопоэтическими стволовыми клетками, где в этом случае трансплантированные клетки могут попадать в нишу, создаваемую на этапе истощения эндогенных клеток, и устанавливать продуктивный гемопоэз. Это, в свою очередь, может восстанавливать популяцию клеток, истощенных во время уничтожения аутоиммунных клеток.

Аутоиммунные заболевания, которые можно лечить с использованием композиций и способов, описанных в данном документе, включают, но без ограничения, псориаз, псориатический артрит, сахарный диабет 1 типа (диабет 1 типа), ревматоидный артрит (RA), системную красную волчанку (SLE), рассеянный склероз (MS), воспалительное заболевание кишечника (IBD), лимфоцитарный колит, острый рассеянный энцефаломиелит (ADEM), болезнь Аддисона, универсальную алопецию, анкилозирующий спондилит, синдром антифосфолипидных антител (APS), апластическую анемию, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (ALPS), аутоиммунный оофорит, болезнь Бало, болезнь Бехчета, буллезный пемфигоид, кардиомиопатию, болезнь Шагаса, синдром хронической усталости и иммунной дисфункции (CFIDS), хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, болезнь Крона, рубцовый пемфигоид, герпетический дерматит, ассоциированный с глютеновой энтеропатией, холодовую агглютининовую болезнь, CREST-синдром, синдром Дегоса, дискоидную волчанку, вегето-сосудистую дистонию, эндометриоз, первичную криоглобулинемию смешанного типа, фибромиалгию-фибромиозит, синдром Гудпасчера, заболевание Грейвса, синдром Гийена-Барре (GBS), тиреоидит Хашимото, гнойный гидраденит, идиопатическую и/или острую тромбоцитопеническую пурпуру, идиопатический легочный фиброз, IgA-нефропатию, интерстициальный цистит, ювенильный артрит, синдром Кавасаки, красный плоский лишай, болезнь Лайма, болезнь Меньера, смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), миастению гравис, нейромиотонию, опсомиоклональный синдром (OMS), неврит зрительного нерва, атрофический аутоиммунный тиреоидит, обыкновенную пузырчатку, пернициозную анемию, полихондрию, полимиозит и дерматомиозит, первичный билиарный цирроз, узелковый полиартериит, полигландулярные синдромы, ревматическую полимиалгию, первичную агаммаглобулинемию, феномен Рейно, синдром Рейтера, ревматическую лихорадку, саркоидоз, склеродермию, синдром Шегрена, синдром мышечной скованности, синдром Такаясу, височный артериит (также известный как «гигантоклеточный артериит»), язвенный колит, коллагенозный колит, увеит, васкулит, витилиго, вульводинию («вульварный вестибулит») и гранулематоз Вегенера.

Пути введения и Дозировки

ADC, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном

документе, можно вводить пациенту (например, пациенту-человеку с раком, аутоиммунным заболеванием или нуждающемуся в трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками) в различных лекарственных формах. Например, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно вводить пациенту с раком, аутоиммунным заболеванием или нуждающемуся в трансплантационной терапии гемопоэтическими стволовыми клетками в виде водного раствора, такого как водный раствор, содержащий один или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных средств. Фармацевтически приемлемые вспомогательные средства для использования с композициями и способами, описанными в данном документе, включают модифицирующие вязкость средства. Водный раствор можно стерилизовать с использованием методик, известных в данной области.

Фармацевтические готовые формы, содержащие ADC против CD117 или антитела, которые описаны в данном документе, получают путем смешивания такого ADC или антитела против CD117 с одним или несколькими необязательными фармацевтически приемлемыми носителями (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) в виде лиофилизированных готовых форм или водных растворов. Фармацевтически приемлемые носители обычно не токсичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают, но без ограничения: буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония; хлорид бензетония; фенол, бутил или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол; и m-крезол); низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; комплексообразующие средства, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннитол, трегалоза или сорбитол; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, Zn-белковые комплексы); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (PEG).

ADC, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно вводить с помощью множества путей, например, перорально, трансдермально, подкожно, интраназально, внутривенно, внутримышечно, внутриглазным способом или парентерально. Наиболее подходящий путь введения в любом данном случае будет зависеть от конкретного вводимого антитела или антигенсвязывающего фрагмента, пациента, способов составления фармацевтической готовой формы, способов введения (например, времени введения и пути введения), возраста пациента, массы тела, пола, тяжести подлежащего лечению заболевания, диеты пациента и скорости экскреции пациента.

Эффективная доза ADC, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, может варьировать, например от приблизительно 0,001 до приблизительно 100 мг/кг массы тела за разовое (например, болюсное) введение, многократное введение или непрерывное введение или для достижения оптимальной концентрации в сыворотке (например, концентрации в сыворотке 0,0001-5000 мкг/мл) антитела, его антигенсвязывающего фрагмента. Дозу можно вводить один или несколько раз (например, 2-10 раз) в день, неделю или месяц субъекту (например, человеку) с раком, аутоиммунным заболеванием или получающему подготовительную терапию при подготовке к получению трансплантата гемопоэтических стволовых клеток. В случае процедуры подготовки перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток ADC, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить пациенту во время, которое оптимально способствует приживлению экзогенных гемопоэтических стволовых клеток, например, от 1 часа до 1 недели (например, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов, 18 часов, 19 часов, 20 часов, 21 час, 22 часа, 23 часа, 24 часа, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней или 7 дней) или более перед введением экзогенного трансплантата гемопоэтических стволовых клеток.

Примеры

Данные, представленные на фиг. 1, 22 и 23, раскрытых в данном документе, отображают данные на основании композиций и способов, описанных в данном документе, включая последовательности, раскрытые в таблицах 1 и 2, и предназначены только для иллюстрации изобретения и не предназначены для ограничения объема того, что авторы считают своим изобретением.

В примерах 1-3 (включая данные, представленные на фиг. 2-4) CD117-ADC представляет СК6, полностью человеческое антагонистическое антитело, специфическое к CD117, которое конъюгировано с токсином, способным истощать циклирующие и не циклирующие клетки. ADC изотипического контроля представляет не нацеленное моноклональное человеческое IgG антитело, конъюгированное с тем же токсином, что и CD117-ADC. В экспериментах, описанных в примерах 1-3, контрольным голым антителом против CD117 является то же антитело СК6, которое используют в CD117-ADC.

Пример 1. Анализ In Vitro ADC против CD117 с использованием Анализа Гибели клеток In Vitro

Антителом против CD117, используемым в ADC в следующем примере, является антитело СК6 против CD117, конъюгированное с аматоксином. Для анализов гибели клеток In Vitro с использованием клеток Kasumi-1, клетки Kasumi-1 выращивали согласно инструкциям ATCC. Более конкретно, клетки Kasumi-1 культивировали в течение трех дней в присутствии CD117-ADC или контроля. Жизнеспособность клеток измеряли с помощью Celltiter Glo. Для анализов гибели клеток In Vitro с использованием человеческих HSC (то есть выделенных первичных человеческих CD34+ отобранных клеток костного мозга (BMC)) человеческие CD34+ BMC культивировали в течение пяти дней с CD117-ADC или

контролем в присутствии IL-6, TPO и лиганда FLT-3 с SCF или без них. Количество живых клеток определяли с помощью проточной цитометрии. Гибель общего количества ядродержащих клеток в культуре отражала результаты, показанные на фиг. 4.

Результаты на фиг. 2A и 2B показывают, что CD117-ADC является очень эффективным при уничтожении экспрессирующих CD117 линий клеток (например, клеток Kasumi-1) или первичных человеческих клеток CD34+ *in vitro*, демонстрируя более чем 90% гибель линии лейкозных клеток Kasumi-1 (фиг. 2A; $IC_{50}=1,6$ пМ) и одинаково эффективную гибель первичных человеческих клеток CD34+ костного мозга во время культивирования *in vitro* (фиг. 2B; $IC_{50}=21$ пМ). Таким образом, CD117-ADC является очень эффективным при уничтожении экспрессирующих CD117 линий клеток и первичных человеческих клеток CD34+.

Пример 2. Анализ истощения HSC In Vivo с использованием ADC против CD117

Антителом против CD117, используемым в ADC в следующем примере, является антитело СК6, конъюгированное с аматоксином. Анализы истощения HSC In vivo проводили с использованием гуманизированных мышей (купленных в лаборатории Jackson). Как схематично показано на фиг. 3A, CD117-ADC (разовая инъекция 0,3 мг/кг CD117-ADC) или контроль вводили в виде разовой дозы в 0 день гуманизированным мышам NSG. PBMC собирали на 7, 14 и 21 день и исследовали с помощью проточной цитометрии. На 21 день (после инъекции) количественно оценивали наличие или отсутствие в костном мозге человеческих клеток CD34+. Определяли процентное значение человеческих миелоидных клеток (фиг. 3B) или процентное значение Т-клеток (фиг. 3C), имеющих в периферической крови получавших лечение CD117-ADC или контроль мышей (не связывающее CD117 антитело соответствующего изотипа), и выражали в виде процентного значения этой популяции клеток перед лечением (нормировано по исходному уровню). На фиг. 3D показано абсолютное количество клеток CD34+ в костном мозге получавших лечение CD117-ADC или контроль мышей через 21 день после разового введения конъюгата антитело-лекарственное средство.

Результаты показывают, что у гуманизированных мышей NSG, получавших лечение CD117-ADC, истощение человеческих HSPC в костном мозге было более чем 90% через 21 день после разового введения ADC. Аналогичные результаты были получены для клеток CD34+ CD90+ и CD34+, CD90+, CD117+ (данные не показаны). Специфичность CD117-ADC для HSPC была подтверждена наличием стабильной популяции периферических человеческих лимфоцитов и отсутствием человеческих миелоидных клеток, что указывает на недостаток стволовых клеток и клеток-предшественников, способных восстанавливать эти клетки с коротким сроком жизни. Соответственно, эти данные показывают, что CD117-ADC истощает человеческие клетки CD34+ в костном мозге гуманизированных мышей NSG.

Пример 3. Исследование Опухоли In Vivo С Использованием ADC против CD117

Антителом против CD117, используемым в ADC и в виде голого антитела,

используемым в следующем примере, является СК6. Лекарственным средством, конъюгированным с антителом СК6 в этом примере, является аматоксин. 5 миллионов клеток Kasumi-1 в/в инъецировали наивным мышам NSG. На 7 день (на фиг. 4C) или на 42 день (фиг. 4D) мыши получали лечение CD117-ADC (0,3 мг/кг) или контроль (либо 0,3 мг/кг, либо 1,0 мг/кг для группы антитела против CD117). После эвтаназии костный мозг мышей анализировали на наличие клеток Kasumi-1. На фиг. 4A представлен фенотипический анализ клеток Kasumi-1 в культуре. На фиг. 4B представлен фенотипический анализ клеток Kasumi-1 из костного мозга мышей-опухоленосителей во время эвтаназии. На фиг. 4C графически представлена кривая выживаемости мышей, получавших лечение CD117-ADC или контроль. На фиг. 4D графически представлена кривая выживаемости мышей (с большей массой опухоли, чем масса опухоли при получении лечения на фиг. 4C), получавших лечение CD117-ADC или контроль. Имелись по меньшей мере 5 мышей в группах без лечения, антитело против CD117 и CD117-ADC.

Как показано на фиг. 4C, животные, получавшие лечение разовой дозой ADC против CD117, демонстрируют 100% выживаемость, даже через 150 дней после инъекции, хотя животные, получавшие контроль, демонстрируют существенное снижение выживаемости в процентах через 110 дней после инъекции. Как показано на фиг. 4D, животные, получавшие лечение разовой дозой ADC против CD117, демонстрируют 100% выживаемость, даже через 130 дней после инъекции, хотя животные, получавшие контроль, демонстрируют существенное снижение выживаемости в процентах через 100 дней после инъекции. Эти результаты также показывают, что CD117-ADC хорошо переносился в получаемых дозах и обеспечивал полную выживаемость получавших лечение мышей.

Пример 4. Анализы Истощения HSC/Приживания In Vivo С Использованием ADC против CD117

Антителом против CD117, используемым в ADC в следующем примере, является 2B8.

Анализы истощения HSC In vivo проводили с использованием мышей B6 (купленных в лаборатории Jackson). Как схематично показано на фиг. 5A, ADC против CD117 (разовую инъекцию ADC против CD117, 1,0 мг/кг в/в) или контроль вводили мышам B6 в виде разовой дозы в 0 день. Через 4 дня после разового введения ADC против CD117 проводили инфузию 1×10^7 донорских CD45.1+ донорских клеток. Кровь брали на 4, 8, 16, 20 неделях, а костный мозг брали на 20 неделе и исследовали с помощью проточной цитометрии. После трансплантации наличие или отсутствие клеток Kit+SCA+CD150+CD48+ в костном мозге количественно оценивали у мышей B6, получавших лечение антителами против CD117-ADC или контроль (фиг. 5B). На фиг. 5C показано процентное значение донорского химеризма у мышей B6, получавших лечение антителами против CD117-ADC или контроль.

Результаты показывают, что у мышей B6, получавших лечение антителами против CD117-ADC (то есть CD117-Сапорин), истощение клеток Kit+SCA+CD150+CD48+ составляло более 95% после разового введения ADC. Кроме того, результаты показывают,

что у мышей B6, получавших лечение антителами против CD117-ADC (то есть CD117-Сапорин), после лечения донорский химеризм был более 70%, указывая на то, что лечение антителами против CD117-ADC (то есть CD117-Сапорин) обеспечивает надежное приживание донорского материала.

Пример 5. Анализ Фармакокинетики у Не являющихся Людьми Приматов

Фармакокинетический анализ у не являющегося человеком примата проводили для определения изменения концентрации (нг/мл) изотипических контрольных антител (то есть «антител дикого типа») по сравнению с вариантными антителами СК6 с модифицированными Fc (то есть с мутацией Fc H435A; вариант относится к модификации Fc), обладающими более коротким временем полураспада в качестве функции времени (после введения). Результаты на фиг. 6 демонстрируют, что вариантное антитело СК6 у не являющегося человеком примата характеризуется существенно более коротким временем полураспада.

Пример 6. Анализ истощения HSC In Vivo С использованием ADC против CD117

Эксперимент проводили для сравнения вариантного антитела СК6 с модифицированным Fc (то есть с мутацией Fc H435A; вариант в этом примере относится к модификации Fc) из примера 5 с ADC против CD117 дикого типа (содержащим антитело СК6, конъюгированное с аматоксином). Анализы истощения HSC In vivo проводили с использованием гуманизированных мышей (купленных в лаборатории Jackson). Вариантное антитело СК6 с модифицированным Fc (то есть с мутацией Fc H435A) из примера 5 вводили в модели гуманизированных мышей в виде разовой инъекции 1 мг/кг CD117-ADC, 0,3 мг/кг CD117-ADC, 0,1 мг/кг CD117-ADC или 0,03 мг/кг CD117-ADC). Кроме того, ADC против CD117 дикого типа аналогичным образом вводили в виде разовой инъекции 1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 0,1 мг/кг или 0,03 мг/кг) гуманизированным мышам в 0 день. Костный мозг брали на 21 день и исследовали с помощью проточной цитометрии (фиг. 7А). На фиг. 7В показано абсолютное количество клеток CD34+ в костном мозге получавших лечение или получавших контроль мышей на 21 день после разового применения схемы лечения.

Результаты показывают, что у гуманизированных мышей NSG, получавших лечение как вариантными антителами СК6 с модифицированным Fc, так и ADC против CD117 дикого типа (с немодифицированной областью Fc), обнаружено существенное истощение человеческих HSPC в костном мозге через 21 день после разового введения ADC по сравнению с контролем (фиг. 7В). Кроме того, данные проточной цитометрии на фиг. 7А показали, что ADC против CD117 дикого типа существенно истощали человеческие клетки CD34+ в костном мозге гуманизированных мышей NSG по сравнению с контролем (то есть с изотипичным ADC (1 мг/кг) и антителом против CD117 (СК6) (1 мг/кг)).

Пример 7. Анализ истощения HSC In Vivo С использованием ADC против CD117

Дополнительный эксперимент проводили для сравнения вариантного антитела СК6

с модифицированным Fc (то есть с мутацией Fc H435A; вариант в этом примере относится к области Fc) из примера 5 с ADC против CD117 дикого типа (антитело СК6 с незамещенной областью Fc, конъюгированное с аматоксином). Анализы истощения HSC *In vivo* проводили с использованием гуманизированных мышей (купленных в лаборатории Jackson). Вариантное антитело СК6 с модифицированным Fc (то есть с мутацией Fc H435A) из примера 5 вводили в модели гуманизированных мышей в виде разовой инъекции 1 мг/кг CD117-ADC, 0,3 мг/кг CD117-ADC, 0,1 мг/кг CD117-ADC или 0,03 мг/кг CD117-ADC). Кроме того, ADC против CD117 дикого типа аналогичным образом вводили гуманизированным мышам в 0 день в виде разовой инъекции 1 мг/кг CD117-ADC, 0,3 мг/кг CD117-ADC, 0,1 мг/кг CD117-ADC или 0,03 мг/кг CD117-ADC). Кровь брали на 21 день и исследовали с помощью проточной цитометрии. Показано процентное значение человеческих CD33+ (фиг. 8A), человеческих CD3+ (фиг. 8B) и человеческих CD19+ (фиг. 8C) у получавших лечение или получавших контроль мышей на 21 день относительно исходного уровня.

Результаты показывают, что у гуманизированных мышей NSG, получавших лечение вариантными антителами СК6 с модифицированным Fc и ADC против CD117 дикого типа, обнаружено существенное истощение человеческих миелоидных клеток CD33+ (фиг. 8A) относительно исходного уровня через 21 день после разового применения схемы лечения и обнаружено, что как ADC СК6 против CD117 с модифицированным Fc, так и ADC СК6 против CD117 дикого типа истощали миелоидные клетки в результате истощения ранних клеток-предшественников. Кроме того, результаты показывают, что как ADC СК6 против CD117 с модифицированным Fc, так и ADC СК6 против CD117 дикого типа не существенно истощают человеческие периферические лимфоциты, например, Т-клетки (в модели с человеческими CD3+ клетками) и В-клетки (в модели с CD19+ клетками) через 21 день после разового применения схемы лечения.

Пример 8. Идентификация новых антител против CD117

фаг-дисплейная библиотека человеческих Fab была сконструирована на основе производных человеческого антитела СК6 (то есть HC-1/LC-1 (Ab1) для идентификации улучшенных антител против CD117, которые имели более хорошие свойства аффинности, чем СК6 при сохранении функциональных антагонистических и интернализационных характеристик СК6. Производным СК6, используемым в качестве основы для скрининга, было Ab1, которое представляет вариант СК6, содержащий консервативные аминокислотные замены в переменных областях легкой цепи и тяжелой цепи. После создания библиотеки процесс скрининга проводили согласно стандартной методике созревания аффинности в фаговом дисплее, известной в данной области. Коротко, HC-1 объединяли со смешанным полученным донорским пулом человеческих легких цепей каппа. Впоследствии проводили селекцию с помощью фагового дисплея для избирательной идентификации клонов с улучшенной скоростью диссоциации после многократных циклов пэннинга. Затем антитела скринировали для идентификации новых антител против CD117 с измененной аффинностью с человеческим CD117, например, с улучшенной скоростью

диссоциации антител при сохранении кинетических характеристик антител СК6, включая интернализацию.

Для подтверждения связывания с нужной мишенью очищенные антитела анализировали на связывание с очищенным рекомбинантным человеческим эктодоменом CD117 с помощью биослойной интерферометрии (BLI). Анализ связывания антител, идентифицированных в ходе процедуры фагового дисплея, выявил ряд производных с улучшенной кинетикой скорости диссоциации по сравнению с HC-1/LC-1 (фиг. 1). Наблюдаемые кинетические значения представлены в таблице 4, в которой перечислена наблюдаемая моновалентная аффинность (K_D), наблюдаемая скорость ассоциации (k_{on}) и наблюдаемая скорость диссоциации (k_{dis}) указанного очищенного IgG с очищенным человеческим эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR) при измерении с помощью BLI.

Таблица 4

Ab	K_D (M)	k_{on} (1/ms)	K_{dis} (1/s)
001 (Ab1)	2,81E-09	3,02E+05	8,48E-04
002 (Ab2)	7,29E-10	3,70E+05	2,70E-04
003 (Ab3)	1,02E-09	3,46E+05	3,52E-04
004 (Ab4)	1,18E-09	3,45E+05	4,05E-04
005 (Ab5)	1,21E-09	3,80E+05	4,61E-04
006 (Ab6)	3,72E-09	3,15E+05	1,17E-03
007 (Ab7)	9,90E-10	2,75E+05	2,72E-04
008 (Ab8)	9,08E-10	2,90E+05	2,64E-04
009 (Ab9)	1,51E-09	2,83E+05	4,27E-04
010 (Ab10)	1,68E-09	3,48E+05	5,85E-04
011 (Ab11)	1,41E-09	3,36E+05	4,74E-04
012 (Ab12)	9,11E-10	2,94E+05	2,68E-04
013 (Ab13)	1,55E-09	3,14E+05	4,88E-04
014 (Ab14)	2,03E-09	2,84E+05	5,77E-04
015 (Ab15)	9,79E-10	2,65E+05	2,60E-04
016 (Ab16)	2,93E-09	3,24E+05	9,49E-04
017 (Ab17)	6,72E-10	4,56E+05	3,06E-04
018 (Ab18)	2,22E-08	2,21E+05	4,91E-03
019 (Ab19)	2,35E-09	2,05E+05	4,81E-04
020 (Ab20)	2,54E-10	7,94E+05	2,02E-04
021 (Ab21)	7,15E-10	6,12E+05	4,37E-04
022 (Ab22)	9,64E-11	2,29E+06	2,21E-04
023 (Ab23)	1,49E-09	4,78E+05	7,13E-04
024 (Ab24)	9,86E-10	1,11E+05	1,10E-04
025 (Ab25)	5,20E-10	2,94E+06	1,53E-03
027 (Ab27)	5,30E-10	7,12E+05	3,78E-04
028 (Ab28)	4,03E-10	9,14E+05	3,68E-04

Подмножество этих антител сконструировано для анализа комбинаций модифицирующих аффинность замен, которые не были отобраны в процедуре фагового дисплея и могут обеспечивать пользу для аффинности в качестве согласованных вариантов последовательностей. Антитела 77, 79 и 81 (Ab77, Ab79 и Ab81, соответственно) типичные примеры дополнительных производных описаны более подробно ниже.

Антитело 77 (имеющее HC-77/LC-77)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела 77 (Ab77) представлена ниже в виде SEQ ID NO:7. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab77 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: TYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:163); IIYPGDS DTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:2); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab77

QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTTYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYP
GDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHHGRGYNGYEGAFDI
 WGQGTMTVTSS (SEQ ID NO:7)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab77 представлена ниже в виде SEQ ID NO 91. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab77 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGVISALA (VL CDR1; SEQ ID NO:164); DASILES (VL CDR2; SEQ ID NO:165); и QQFNSYPLT (VL CDR3; SEQ ID NO:166).

Последовательность VL Ab77

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAWYQQKPGKAPKLLIYDASILES
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTTFGGGTKVEIK (SEQ ID
 NO:91)

Антитело 79 (имеющее HC79/LC79)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab79 представлена ниже в виде SEQ ID NO:7. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab79 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: TYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:163); IIYPGDS DTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:2); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab79

QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTTYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYP
GDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHHGRGYNGYEGAFDI
 WGQGTMTVTSS (SEQ ID NO:7)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab79 представлена ниже в виде SEQ ID NO:93. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab79 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGVGSALA (VL CDR1; SEQ ID NO:167); DASILES (VL CDR2; SEQ ID NO:165); и QQFNSYPLT (VL CDR3; SEQ ID NO:166).

Последовательность VL Ab79

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASILES
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTTFGGGTKVEIK (SEQ ID
 NO:93)

Антитело 81 (имеющее HC-81/LC-81)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab81 представлена ниже в виде SEQ ID NO:7. Аминокислотные последовательности CDR

VH Ab81 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: TYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:163); IYPGDS DTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:2); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab81

QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQMPGKGLEWMGIYP
GDS DTRYSPSFQGVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDI
WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:7)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab81 представлена ниже в виде SEQ ID NO 95. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab81 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGVISALA (VL CDR1; SEQ ID NO:164); DASTLES (VL CDR2; SEQ ID NO:168); и QQFNSYPLT (VL CDR3; SEQ ID NO:166).

Последовательность VL Ab81

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:95)

Эта подгруппа клонов, состоящих из циклов выходных данных библиотеки в CDR1 и CDR2 легкой цепи, обеспечила анализ совместных замен в последующих анализах связывания *in vitro*.

Пример 9. Исследования Связывания Антител In Vitro

Антитела, идентифицированные в примере 8, тестировали на связывание. Исследования связывания антител проводили при 25 градусах по Цельсию в 1x PBS, дополненном 0,1% м/о бычьего сывороточного альбумина с Pall ForteBIO Octet Red96 с использованием биослойной интерферометрии (BLI). Указанное очищенное человеческое антитело (как IgG1) иммобилизовали на биосенсорах античеловеческих Fc (АНС; Pall ForteBIO 18-5063) и инкубировали с 33,3 нМ и 11 нМ эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR).

На фиг. 9 представлены полученные интервалы связывания, которые отображают кривые ассоциации и диссоциации. В таблице 5 представлены наблюдаемая моновалентная аффинность (K_D), наблюдаемая скорость ассоциации (k_{on}) и наблюдаемая скорость диссоциации (k_{dis}), которые определяют путем полной локальной подстановки в режиме связывания 1:1 при расчета с помощью программного обеспечения версия 10 ForteBIO для анализа данных указанного очищенного IgG (то есть HC-77/LC-106 IgG; HC-109/LC-110 IgG; и HC-113/LC-114 IgG) с очищенным человеческим эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR). В таблице 5 приведены наблюдаемая моновалентная аффинность (K_D), наблюдаемая скорость ассоциации (k_{on}) и наблюдаемая скорость диссоциации (k_{OFF}) указанного очищенного IgG с очищенным человеческим эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR). Результаты показывают, что очищенный IgG (то есть HC-77/LC-77 IgG; HC-79/LC-79 IgG; и HC-81/LC-81 IgG) связывается с высокой аффинностью с очищенным человеческим эктодоменом CD117 и характеризуется существенно более медленной

$k_{dis}(1/s)$ по сравнению с очищенным IgG HC-1/LC-1.

Таблица 5

Антитело	K_D (M)	$k_{on}(1/ms)$	$K_{dis}(1/s)$
HC-1/LC-1 (Ab1) (контроль)	$3,10 \times 10^{-9}$	$4,20 \times 10^5$	$1,30 \times 10^{-3}$
HC-77/LC-77 (Ab77)	$6,84 \times 10^{-10}$	$3,15 \times 10^5$	$2,15 \times 10^{-4}$
HC-79/LC-79 (Ab79)	$1,52 \times 10^{-9}$	$3,16 \times 10^5$	$4,78 \times 10^{-4}$
HC-81/LC-81 (Ab 81)	$8,77 \times 10^{-10}$	$2,88 \times 10^5$	$2,52 \times 10^{-4}$

Как описано в таблице 5, каждое антитело Ab77, Ab79 и Ab81 имело улучшенное связывание (K_D) по сравнению с родительским антителом Ab1. Неожиданно, сохранился высокий уровень аффинности при улучшении скорости диссоциации.

Пример 10. Идентификация антитела 85 против CD117 (Ab85), антитела 86 против CD117 (Ab86), антитела 87 против CD117 (Ab87), антитела 88 против CD117 (Ab88) и антитела 89 против CD117 (Ab89)

В дополнение к скринингу, описанному в примерах 8 и 9, также провели второй скрининг на основе антитела СК6. Фаг-дисплейная библиотека scFv была сконструирована на основе производных человеческих антител СК6 (как в примере 8 вариантом СК6 было Ab1). Коротко, небольшую синтетическую библиотеку вариантов CDRH3 создали для удаления участка потенциального деамидирования (NG) и ввели в библиотеку большого разнообразия человеческого каркаса либо IGHV5-51, либо IGHV1-46. Этот скрининг был связан с проблемой, учитывая позицию аминокислоты в области CDR3 тяжелой цепи. Синтетическую библиотеку объединяли с библиотекой большого разнообразия человеческого каркаса легкой цепи IGKV1-39. Затем провели отбор фаговых дисплеев для выборочной идентификации клонов с улучшенной скоростью диссоциации после повторных циклов пэннинга. Затем антитела скринировали для идентификации новых антител против CD117 с улучшенной аффинностью с человеческим CD117. Некоторые антитела, включая антитела, идентифицированные ниже, идентифицировали с использованием скрининга.

Антитела 85 (Ab85), 86 (Ab86), 87 (Ab87), 88 (Ab88) и 89 (Ab89) идентифицировали при скрининге как новые терапевтические человеческие антитела против CD117. Ниже в таблице 6 описаны переменные области тяжелой цепи и легкой цепи Ab85, Ab86, Ab87, Ab88 и Ab89 (включая домены CDR).

Таблица 6

Название антитела	Каркас	Аминокислотная последовательность
HC-85	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGK GLEWMAIINPRDSDTRYRPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:143)
LC-85	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQGIRSDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QANGFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:144)
HC-86	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGK GLEWMGHIYPGDSDIRYSPSLQGQVTISVDTSTSTAYLQWNSLKP SDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:151)
LC-86	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDSLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QLNGYPITFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:152)
HC-87	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGK GLEWMAIINPRDSDTRYRPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:143)
LC-87	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ LNGYPITFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:156)
HC-88	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGK GLEWMGHIYPGDSLTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:158)
LC-88	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ LNGYPITFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:156)

HC-89	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:160)
LC-89	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDSLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QLNGYPITFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:152)

Антитело HC-85/LC-85 (Ab 85)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab85 представлена ниже в виде SEQ ID NO:143. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab85 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IINPRDSDTRYRPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:146); и HGRGYEGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:147).

Последовательность VH Ab85

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPR
DSDTRYRPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDI
WGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:143)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab85 представлена ниже в виде SEQ ID NO 144. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab85 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RSSQGIRSDLG (VL CDR1; SEQ ID NO:148); DASNLET (VL CDR2; SEQ ID NO:149); и QQANGFPLT (VL CDR3; SEQ ID NO:150).

Последовательность VL Ab85

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQGIRSDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASNLET
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID
NO:144)

Антитело HC-86/LC-86 (Ab86)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab86 представлена ниже в виде SEQ ID NO:151. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab86 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IYPGDS DIRYPSLQG (VH CDR2; SEQ ID NO:153); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab86

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG
DSDIRYPSLQGGQVTISVDTSTSTAYLQWNSLKPSDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDI
WGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:151)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab86 представлена ниже в виде SEQ ID NO 152. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab86 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIGDSLA (VL CDR1;

SEQ ID NO:154); DASNLET (VL CDR2; SEQ ID NO:149); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab86

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIGDSLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE
TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:152)

Антитело HC-87/LC-87 (Ab87)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab87 представлена ниже в виде SEQ ID NO:143. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab87 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IINPRDS TRYRPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:146); и HGRGYEGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:147).

Последовательность VH Ab87

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPR
DS TRYRPSFQGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDI
WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:143)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab87 представлена ниже в виде SEQ ID NO 156. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab87 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIRNDLG (VL CDR1; SEQ ID NO:157); DASSLES (VL CDR2; SEQ ID NO:5); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab87

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASSLE
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:156)

Антитело HC-88/LC-88 (Ab88)

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Ab88 представлена ниже в виде SEQ ID NO:158. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab88 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IYPGDSLTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:159); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab88

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPG
DSLTRYSPSFQGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIW
GQGLTVTVSS (SEQ ID NO:158)

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Ab88 представлена ниже в виде SEQ ID NO:156. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab88 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIRNDLG (VL CDR1; SEQ ID NO:157); DASSLES (VL CDR2; SEQ ID NO:5); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab88

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASSLE
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGKVEIK (SEQ ID
NO:156)

Антитело HC-89/LC-89 (Ab89)

Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи (VH) Ab89 представлена ниже в виде SEQ ID NO:160. Аминокислотные последовательности CDR VH Ab89 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: NYWIG (VH CDR1; SEQ ID NO:145); IIYPGDS DTRYSPSFQG (VH CDR2; SEQ ID NO:2); и HGRGYNGYEGAFDI (VH CDR3; SEQ ID NO:3).

Последовательность VH Ab89

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG
DSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDI
WGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:160)

Аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи (VL) Ab89 представлена ниже в виде SEQ ID NO:152. Аминокислотные последовательности CDR VL Ab89 ниже подчеркнуты и представлены следующим образом: RASQGIGDSL (VL CDR1; SEQ ID NO:154); DASNLET (VL CDR2; SEQ ID NO:149); и QQLNGYPIT (VL CDR3; SEQ ID NO:155).

Последовательность VL Ab89

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIGDSLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE
TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGKVEIK (SEQ ID
NO:152).

Пример 11. Исследования In vitro Связывания Антитела 85, Антитела 86, Антитела 87, Антитела 88 и Антитела 89

Ab85, Ab86, Ab87, Ab88 и Ab89 дополнительно исследовали на характеристики связывания с использованием стандартного связывания с помощью Octet. Исследования связывания антител проводили при 25 градусах по Цельсию в 1x PBS, дополненном 0,1% м/о бычьего сывороточного альбумина с Pall ForteBIO Octet Red96 с использованием биослойной интерферометрии (BLI). Указанное очищенное человеческое антитело иммобилизовали на биосенсорах античеловеческих Fc (АНС; Pall ForteBIO 18-5063) и инкубировали с 33,3 нМ (верхние следы) и 11 нМ (нижние следы) эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR). На фиг. 10А представлены полученные интервалы связывания, которые отображают кривые ассоциации и диссоциации (то есть HC-85/LC-85) и 10В (то есть HC-1/LC-1). В таблице 7 представлены наблюдаемая моновалентная аффинность (K_D), наблюдаемая скорость ассоциации (k_{on}) и наблюдаемая скорость диссоциации (k_{dis}) указанного очищенного IgG (то есть HC-85/LC-85) с очищенным человеческим эктодоменом CD117 (R&D Systems #332-SR) по сравнению с контролем (то есть HC-1/LC-1). Результаты демонстрируют, что очищенный IgG (то есть HC-85/LC-85 IgG) связывается с высокой аффинностью с очищенным человеческим эктодоменом CD117 и

характеризуется медленной k_{dis} (1/s) относительно родительского антитела Ab1. Таким образом, несмотря на модификацию в HCDR3 аффинность связывания была улучшена, то есть была более медленная скорость диссоциации, а участок деамидирования был удален.

Таблица 7

	K_D (M)	K_{on} (1/ms)	K_{dis} (1/s)
HC-85 /LC-85 (Ab85)	$8,35 \times 10^{-10}$	$5,20 \times 10^5$	$4,34 \times 10^{-4}$
HC-1 /LC-1 (Ab1)	$4,09 \times 10^{-9}$	$5,56 \times 10^5$	$2,27 \times 10^{-3}$

На фиг. 11A и 11B представлено сравнение аминокислотных последовательностей переменных областей и CDR тяжелой и легкой цепей Ab85 и Ab1.

Пример 12. Идентификация новых антител против CD117

После идентификации ряда улучшенных антител против CD117, полученных из антител СК6 против CD117, затем на связывание тестировали комбинации антигенсвязывающих областей (переменных областей) антител, идентифицированных в примерах 8-11.

Для идентификации дополнительных антител против CD117 с предпочтительными терапевтическими свойствами последовательности тяжелой цепи и легкой цепи, раскрытые в данной документе, смешивали и сопоставляли с созданием новых антител против CD117. В результате этого процесса следующие антитела идентифицировали как предпочтительные антитела против CD117: HC-245/LC-245 (то есть Ab245), HC-246/LC-246 (то есть Ab246), HC-247/LC-247 (то есть Ab247), HC-248/LC-248 (то есть Ab248) и HC-249/LC-249 (то есть Ab249).

Таблица 8

Название антитела	Каркас	Аминокислотная последовательность
HC-245	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMP GKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQW SSLKASDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:98)
LC-245	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGK APKLLIYDASTLES GVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQFN GYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:99)
HC-246	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQM PGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQ WSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTV SS (SEQ ID NO:7)
LC-246	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGK APKLLIYDASTLES GVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQFN GYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:99)
HC-247	hIgG1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYWIGWVRQM PGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQ WSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTV SS (SEQ ID NO:7)
LC-247	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRGISDYLA WYQQKPGK APKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQANSPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:100)
HC-248	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMP GKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQW SSLKASDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:98)
LC-248	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGK APKLLIYDASTLES GVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQLNGYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:101)
HC-249	hIgG1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMP GKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQW SSLKASDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:98)

LC-249	hКаппа	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGK APKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQLNGYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:102)
--------	--------	---

На фиг. 11C и 11D представлено выравнивание переменных областей тяжелой и легкой цепей СК6 и Ab249.

Пример 13: Кинетический Анализ антител против CD117 с Улучшенной аффинностью

Для проведения различия между антителами против CD117 со зрелой аффинностью с помощью биослойной интерферометрии определяли кинетику моновалентного связывания по сравнению с производным от СК6 Ab1 (HC-1, LC-1). HC-77/LC-77 (то есть Ab77), HC-79/LC-79 (то есть Ab79), HC-81/LC-81 (то есть Ab81), HC-85/LC-85 (то есть Ab85), HC-245/LC-245 (то есть Ab245), HC-246/LC-246 (то есть Ab246), HC-247/LC-247 (то есть Ab247), HC-248/LC-248 (то есть Ab248) и HC-249/LC-249 (то есть Ab249) и HC-1/LC-1 (то есть Ab1) иммобилизовали на биосенсорах античеловеческих Fc (AHC; Pall ForteBIO 18-5063) и инкубировали с 33 нМ и 11 нМ CD117 очищенным эктодоменом (R&D Systems #332-SR).

В таблице 9 представлена наблюдаемая моновалентная аффинность (K_D), наблюдаемая скорость ассоциации (k_{on}) и наблюдаемая скорость диссоциации (k_{dis}). Для каждого антитела рассчитывали улучшение наблюдаемой скорости диссоциации по сравнению с HC-1/LC-1 (то есть Ab1). Антитело HC-249/LC-249 (то есть Ab249) продемонстрировало наиболее улучшенную скорость диссоциации и наивысшую наблюдаемую моновалентную аффинность. Антитела HC-85/LC-85 (то есть Ab85) имели наивысшую наблюдаемую скорость ассоциации среди набора протестированных антител по сравнению с Ab1, а также имели удаленный участок деамидирования в CDR3 тяжелой цепи. Полученные сенсограммы, которые отображают кривые ассоциации и диссоциации, показаны для производных СК6 антитела (HC-1/LC-1, то есть Ab1), антитела HC-85/LC-85 (то есть Ab85) и антитела HC-249/LC-249 (то есть Ab249) (фиг. 12A, 12B и 12C).

Таблица 9

Антитело	K_D (M)	k_{on} (1/ms)	k_{dis} (1/s)	Кратное улучшение (скорость диссоциации)
Ab1	$4,09 \times 10^9$	$5,56 \times 10^5$	$2,27 \times 10^{-3}$	--
HC-77 /LC-77	$6,84 \times 10^{-10}$	$3,15 \times 10^5$	$2,15 \times 10^{-4}$	10,5
HC-79 /LC-79	$1,52 \times 10^{-9}$	$3,16 \times 10^5$	$4,78 \times 10^{-4}$	4,7
HC-81 /LC-81	$8,77 \times 10^{-10}$	$2,88 \times 10^5$	$2,52 \times 10^{-4}$	9
HC-85 /LC-85	$8,35 \times 10^{-10}$	$5,20 \times 10^5$	$4,34 \times 10^{-4}$	5,2
HC-245 /LC-245	$8,13 \times 10^{-10}$	$3,50 \times 10^5$	$2,85 \times 10^{-4}$	7,9

НС-246 /LC-246	$7,08 \times 10^{-10}$	$3,61 \times 10^5$	$2,55 \times 10^{-4}$	8,9
НС-247 /LC-247	$1,68 \times 10^{-9}$	$3,74 \times 10^5$	$6,30 \times 10^{-4}$	3,6
НС-248 /LC-248	$9,22 \times 10^{-10}$	$3,46 \times 10^5$	$3,19 \times 10^{-4}$	7,1
НС-249 /LC-249	$5,51 \times 10^{-10}$	$3,44 \times 10^5$	$1,89 \times 10^{-4}$	12

Как описано в таблице 9, скорость диссоциации Ab249 была существенно улучшена по сравнению с родительским антителом, Ab1, где скорость была приблизительно в 12 раз меньше, чем родительская.

Пример 14: Получение Характеристики Вариантов Заряда Антител против CD117

Капиллярное изоэлектрическое фокусирование проводили на подгруппе антител против CD117 с улучшенной аффинностью, чтобы определить, повлияла ли дифференциация последовательности на биофизические свойства антител. Коротко, 10-40 микрограмм антител подвергли 7- и 15-дневной инкубации при 25 или 50 градусах по Цельсию и анализировали методом капиллярного электрофореза с использованием инструмента Maurice, изготовленного Protein Simple, согласно стандартным инструкциям производителя. Образцы антител мигрируют к своему электрически нейтральному рН. Долю кислых вариантов рассчитывали на основании пиков поглощения, обнаруженных ниже изоэлектрической точки относительно всего инжектированного образца.

Ab1 (НС-1/LC-1), производное СК6, продемонстрировало 26% кислых форм в начале анализа, и эта доля увеличилась до 57% и 54% всех инжектированных антител после 7 дней инкубации при 25 и 50 градусах по Цельсию, соответственно. С увеличением инкубации для 15 дней доля кислых вариантов для СК6 увеличилась до 68% и 78% всех инжектированных антител при 25 и 50 градусах по Цельсию, соответственно.

Для сравнения, антитело НС-85/LC-85 (то есть Ab85) продемонстрировало существенно более низкую долю кислых вариантов (6,9% в T0) и пониженное накопление кислых вариантов при 25 градусах по Цельсию (16% на 7 день; 18% на 15 день) и при 50 градусах по Цельсию (36% на 7 день; 50% на 15 день).

Антитело НС-249/LC-249 (то есть Ab249) продемонстрировало более высокую долю кислых вариантов в начале эксперимента, чем Ab85 (31%), однако, эта доля существенно не увеличивалась после инкубации при 25 градусах по Цельсию (35% на 7 день; 23% на 15 день). После стресса при 50 градусах по Цельсию доля кислых форм увеличилась для Ab249 как на 7 день, так и на 15 день (52% и 65%; соответственно).

Антитела, протестированные в этом примере, отестили как IgG1 антитела с одинаковыми константными областями тяжелой и легкой цепей, описанными в SEQ ID NO:169 и 183, соответственно. Таким образом, наблюдаемое колебание стабильности, отраженное в процентном выражении кислого варианта при тестировании, было обусловлено переменными областями.

Из всех проанализированных антител Ab85 имело самую низкую долю кислых

вариантов и наименьшее накопление этих форм после стрессовых условий, которые показаны на фиг. 13А и 13В.

Пример 15: Получение характеристики гидрофобности антител против CD117

Подгруппу антитела против CD117 с улучшенной аффинностью оценивали после инкубации при 25 или 50 градусах по Цельсию в течение 15 дней с помощью хроматографии с гидрофобным взаимодействием (HIC). Коротко, 50 микрограмм указанных антител инжесктировали в 10-микронную колонку Tosoh TSKgel Phenyl-5PW 7,5 мМ ID x 7,5 см (Catalog # 07573) в системе Waters ARC HPLC/UPLC. Для варианта СК6 (Ab1; HC-1/LC-1) расширение пика наблюдали после 15 дней инкубации при 25 и 50 градусах по Цельсию. Для антител HC-77/LC-77 с улучшенной аффинностью (то есть Ab 77), HC-79/LC-79 (то есть Ab 79) и HC-81/LC-81 (то есть Ab 81) существенное расширение пика было видно на хроматограммах как для мягких (25 градусах по Цельсию), так и для тяжелых (50 градусов по Цельсию) условий. Ab85 продемонстрировало минимальное расширение пика после инкубации при 25 или 50 градусах по Цельсию после 15 дней, демонстрируя самое низкое изменение гидрофобности протестированных антител против CD117 с улучшенной аффинностью и по сравнению с вариантом Ab1 СК6 (HC-1/LC-1), как описано на фиг. 14А-14Е. Как описано в примере 14, антитела содержали одинаковые последовательности константной области.

Пример 16: Анализ In Vitro ADC против CD117 с Улучшенной аффинностью с Использованием Анализа Гибели клеток in vitro

Для оценки потенциала антител против CD117 с улучшенной аффинностью в качестве ADC клетки Kasumi-1 культивировали в течение трех дней в присутствии указанного ADC против CD117 (антитела, конъюгированного с аматоксином) или контрольного изотипического ADC. Жизнеспособность клеток измеряли с помощью Celltiter Glo (фиг. 15).

Для изучения потенциала антител против CD117 с улучшенной аффинностью в качестве ADC на первичных клетках in vitro человеческие HSC (то есть выделенные первичные человеческие CD34+ отобранные клетки костного мозга (BMC), человеческие CD34+ BMC культивировали в течение пяти дней с указанным ADC против CD117 или контрольным изотипическим ADC в присутствии IL-6, TPO и лиганда FLT-3. Количества клеток CD34+ CD90+ определяли с помощью проточной цитометрии (фиг. 16).

Как показано на фиг. 15 и 16, и HC-85/LC-85 ADC (то есть Ab85) и HC-249/LC-249 ADC (то есть Ab249) были эффективными при уничтожении Kasumi-1 ($1,76 \times 10^{-11}$ М и $2,5 \times 10^{-11}$ М, соответственно; см. Таблицу 10) и первичных человеческих клеток CD34+ in vitro ($5,74 \times 10^{-12}$ М и $6,67 \times 10^{-12}$ М, соответственно; см. Таблицу 11), и потенциал был аналогичным СК6 ($1,48 \times 10^{-11}$ М для Kasumi-1; $9,8 \times 10^{-12}$ М для первичных человеческих клеток CD34+ CD90+) (Таблицы 10 и 11).

Таким образом, антитела Ab85 и Ab249 против CD117 продемонстрировали заметное улучшение моновалентной аффинности (фиг. 12В и 12С), превосходное биофизическое поведение при измерении с помощью кислых вариантов и гидрофобность

при тепловом стрессе (фиг. 13А и 13В и на фиг. 14А-14Е) и аналогичный потенциал *in vitro* в качестве ADC в анализах цитотоксичности на Kasumi-1 (фиг. 15) и первичных человеческих клетках CD34⁺ CD90⁺ по сравнению с СК6 (фиг. 16). Кроме того, Ab85 имели улучшенный домен CDR3 HC, так как участок потенциального деамидирования удаляли без отрицательного влияния на характеристики антитела.

Таблица 10

Антитело	IC50 (M)
СК6	$1,48 \times 10^{-11}$
HC-249 /LC-249	$2,50 \times 10^{-11}$
HC-85 /LC-85	$1,76 \times 10^{-11}$

Таблица 11

Антитело	IC50	% эффект ивность	Антитело	IC50	% эффект ивность
СК6	$9,77 \times 10^{-12}$	70,80	HC-245 /LC-245	$5,78 \times 10^{-12}$	76,43
HC-77 /LC-77	$6,94 \times 10^{-12}$	54,38	HC-246 /LC-246	$4,53 \times 10^{-12}$	67,82
HC-79 /LC-79	$7,09 \times 10^{-12}$	63,37	HC-247 /LC-247	$8,37 \times 10^{-12}$	55,43
HC-81 /LC-81	$3,77 \times 10^{-12}$	68,74	HC-248 /LC-248	$6,46 \times 10^{-12}$	47,80
HC-85 /LC-85	$5,74 \times 10^{-12}$	71,18	HC-249 /LC-249	$6,67 \times 10^{-12}$	52,01

Пример 17: Анализ истощения HSC In Vivo С использованием ADC против CD117 с Улучшенной Аффинностью

Эксперимент *in vivo* проводили для оценки антитела HC-85/LC-85 с улучшенной аффинностью (то есть Ab85) со сконструированным Fc (то есть с мутацией Fc H435A). Мутация H435A связана со снижением времени полураспада антител, в которые ее вводят. Этот эксперимент проводили для определения, как эта мутация будет влиять на общие характеристики ADC Ab85 (Ab85, конъюгированного с аматоксином посредством расщепляемого линкера).

Анализы истощения HSC *In vivo* проводили с использованием гуманизированных мышей NSG (купленных в лаборатории Jackson). антитело Ab85 с модифицированным Fc (то есть, характеризующийся мутацией Fc H435A) конъюгировали в качестве ADC и вводили в модели гуманизированных мышей в виде разовой инъекции 0,3 мг/кг. Кровь брали на 0, 7 и 14 дни и исследовали с помощью проточной цитометрии. Показано процентное значение человеческих CD33⁺ у получавших лечение или получавших

контроль мышей относительно исходного уровня (фиг. 17A). Костный мозг брали на 14 день, и с помощью проточной цитометрии определили абсолютное количество клеток CD34+ (фиг. 17B).

Результаты показывают, что гуманизированные мыши NSG, получавшие лечение ADC Ab85 с модифицированным Fc, показали существенное истощение человеческих миелоидных клеток CD33+ относительно исходного уровня через 7 и 14 дней после разового применения схемы лечения и показывают, что ADC Ab85 с модифицированным Fc истощали миелоидные клетки в результате истощения ранних клеток-предшественников. Кроме того, гуманизированные мыши NSG, получавшие лечение ADC Ab85 показали существенное истощение человеческих HSC в костном мозге через 14 дней после разового введения ADC по сравнению с контролем. Таким образом, ADC Ab85 с модифицированной областью Fc был эффективным при избирательном истощении стволовых клеток CD34+ и клеток-предшественников CD33+.

Пример 18: Конъюгаты антитело-лекарственное средство CD117-аманитин Эффективно Истощают Человеческие HSC и HSC Не являющегося Человеком Примата

Генотоксическая подготовка перед трансплантацией (HSCT) аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (HSC) и инфузия аутологичных HSC с измененными генами ограничивает использование этих потенциальных радикальных видов лечения вследствие связанных с режимом рисков заболеваемости и смертности, включая риски бесплодия и вторичных злокачественных новообразований. CD117, который специфически экспрессируется на HSC и предшественниках, быстро интернализируется и является идеальной мишенью для подхода к подготовке на основе ADC. Так как ранее было показано, что разовая доза ADC против CD117 >95% истощала HSC костного мозга в модели гуманизированных мышей и снижала нагрузку болезни при увеличении выживаемости в модели опухоли AML (Hartigan et al. Blood 2017 130:1894), цель этого примера в разработке потенциального ADC против CD117, высоко эффективного для устранения HSC-хозяина с коротким временем полураспада и минимальными вредными побочными эффектами в модели не являющегося человеком примата (NHP).

Цитотоксины, вариант калихимицина, пирролбензодиазепин (PBD) и аманитин (AM) сайт-специфически конъюгировали с антителом против CD117 (СК6; время полураспада дикого типа). ADC титровали и оценивали на цитотоксичность *in vitro* с использованием клеток CD34+ человеческого костного мозга (фиг. 18). ADC вводили гуманизированным мышам NSG в возрастающих дозах. Истощение HSC и иммунофенотип человеческих клеток в периферической крови определили с помощью проточной цитометрии на 21 день (данные не показаны). Антитела против CD117, конъюгированные с аманитином (AM), ингибитором РНК-полимеразы II, приводили к >90% истощению человеческих HSC у гуманизированных мышей NSG при 0,3 мг/кг. AM-конъюгаты также демонстрировали широкое терапевтическое окно в этой модели (терапевтический индекс >120). Эти данные также показывают, что ADC с калихимицином и аманитином

демонстрируют сопоставимое истощение HSC.

Опосредованное конъюгатом с аманитином истощение HSC у NHP оценивали у самцов макак-крабоедов в разовых возрастающих дозах (3/группа). Содержание HSC в костном мозге отслеживали с помощью анализа проточной цитометрии и образующих колонии единиц (CFU) на 7 или 14 и 56 день после введения дозы. Гематологические и клинические химические показатели оценивали на протяжении двухмесячного исследования.

Целевое зависимое от дозы снижение фенотипических HSC и CFU наблюдали в костном мозге на 7 день после введения дозы антител против CD117-AM, где истощение HSC >95% наблюдали при разовой дозе 0,3 мг/кг (фиг. 19). На периферии, зависимое от дозы временное снижение ретикулоцитов наблюдали на 4 день с самым низким уровнем нейтрофилов и моноцитов на 18 день (данные не показаны). Тяжесть и продолжительность истощения также зависели от дозы. Истощение, вызванное антителами против CD117-AM, зависело от мишени и аманитина, так как неконъюгированные антитела и изотип-AM не оказывали эффекта (фиг. 19). Примечательно, что количества лейкоцитов и лимфоцитов были стабильными до 56 дня (данные не показаны), демонстрируя, что эта стратегия бережет адаптивную иммунную систему. Самый низкий уровень кровяных пластинок наблюдался через 4-8 дней после инфузии и был зависимым от дозы временным и обратимым. Это также происходило с изотипом-AM, подтверждая не целевое действие.

Поскольку время полураспада антител против CD117-AM составляло 5 дней, на NHP провели второе исследование с эскалацией дозы с антителами против CD117-AM (HC-85; LC-85), сконструированными так, чтобы они имели короткое время полураспада (~18 ч), так как это может быть более подходящим для трансплантата показателем. антитело против CD117-AM с коротким временем полураспада продемонстрировало аналогичный потенциал для всех параметров клеток при 0,3 мг/кг или при дробной дозе (0,3/0,2 мг/кг Q3Dx2) и хорошо переносилось при эффективной дозе (фиг. 20). Как и ожидалось, антитело против CD117-AM с коротким временем полураспада быстро исчезало с временем полураспада 15-18 ч. В заключение, антитела против CD117-AM демонстрируют сильную элиминацию HSC NHP и предшественников *in vivo*.

Пример 19: Модифицирующие средства Конъюгатов антитело против CD117-лекарственное средство (ADC) обладают высокой противолейкозной Активностью In Vivo в Клеточной Линии и в Моделях полученных у Пациента Ксенотрансплантатов

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) представляет потенциально приводящий к выздоровлению подход у пациентов с рефракторными гематологическими злокачественными новообразованиями или их высоким риском. Перед трансплантацией пациентов готовят с помощью высокодозовой химиотерапии или химиотерапии и облучения всего тела, что связано с ранней и поздней заболеваемостью и существенным риском смертности. В результате многие подходящие пациенты не рассматривают трансплантацию, а из перенесших трансплантацию, 2/3 могут переносить подготовку только пониженной интенсивности, что связано с увеличением

частоты рецидивов. Таким образом, для улучшенной борьбы с болезнями срочно необходимы более безопасные и более эффективные модифицирующие средства. Для удовлетворения этой потребности авторы изобретения разработали новый конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), конъюгированный с аманитином (AM), нацеленным на CD117, который у >60% пациентов экспрессируется на гемопоэтических стволовых клетках и клетках-предшественниках и клетках острого миелоидного лейкоза (AML) и миелодиспластического синдрома (MDS). Цель этого примера состоит в определении анти-лейкозного потенциала антител против CD117, конъюгированных с аманитином, средством, которое как было показано ранее, истощает первичные человеческие HSPC *in vitro* и *in vivo* (Hartigan et al. Blood. 130; 1894 (2017)).

ADC, содержащие антитело СК6 против CD117, конъюгировали с аманитином. ADC тестировали в трех полученных у пациентов ксенотрансплантатах (PDX), полученных из образцов FLT-3+NPM1+ AML (J000106132 (фиг. 21A), J000106565 (фиг. 21B), J000106134 (фиг. 21C)) с разной кинетикой роста (медианная выживаемость в группах, получавших лечение носителем, составляла 43 дня (Таблица 12; см. Также фиг. 21A), 63 дня (Таблица 13; см. Также фиг. 21B), 82 дня (Таблица 14; см. Также фиг. 21C) после инокуляции), которые экспрессируют CD117 (лаборатория Jackson).

Таблица 12

ADC	Доза (мг/кг)	Медианная выживаемость (Дней)
PBS	--	43
Антитела против CD117-AM	1	75,5
Антитела против CD117-AM	0,3	55
Изотип-AM	1	46
Антитела против CD117-голое	1	43

Таблица 13

ADC	Доза (мг/кг)	Медианная выживаемость (Дней)
PBS	--	82
Антитела против CD117-AM	1	>225
Антитела против CD117-AM	0,3	179
Изотип-AM	1	75
Антитела против CD117-голое	1	75

Таблица 14

ADC	Доза (мг/кг)	Медианная выживаемость (Дней)
PBS	--	63
Антитела против CD117-AM	1	106
Антитела против CD117-AM	0,3	95
Изотип-AM	1	63
Голые Антитела против CD117	1	63

Для трех PDX (J000106132 (фиг. 21A), J000106565 (фиг. 21B), J000106134 (фиг. 21C)) разовую внутривенную дозу ADC (CD117-AM, изотип-AM (ISO-AM), неконъюгированных антител против CD117 или носителя PBS) вводили животным с AML-PDX, когда в крови наблюдали 2-5% бластных клеток. В модели 4-5 мышей/группа/AML-PDX у реципиентов 0,3 мг/кг CD117-AM и 1 мг/кг CD117-AM выживаемость существенно увеличивалась по сравнению с контролем в виде носителя (Таблицы 12-14; фиг. 21A-21C).

В дополнение к истощению нормальных HSPC-хозяев, на основании этих данных в моделях гуманизированных мышей с внедренным AML, CD117-AM является мощным противолейкозным средством. В сочетании с предыдущими сообщениями о потенциале CD117-AM в качестве средства подготовки этот негенотоксичный ADC (или варианты СК6 с улучшенными свойствами, описанные в данном документе) можно использовать при подготовке пациентов с активным заболеванием и реципиентов пониженной дозы, у которых имеется высокий риск рецидива заболевания.

Пример 20. Идентификация новых антител против CD117 путем Иммунизации Крыс

В качестве третьей стратегии идентификации новых антител против CD117 5 крыс иммунизировали синтетической ДНК, кодирующей человеческий эктодомен CD117 (aa26-524; PO10721), и согласно стандартным способам, известным в данной области, получали слияние гибридом. Гибридомы скринировали на связывание с клеточными линиями, экспрессирующими человеческий эктодомен CD117 (aa26-524; PO10721) и эктодомен CD117 макак-крабоедов (aa26-521; F6V858), для идентификации антител, которые будут участвовать в скрининге. С помощью проточной цитометрии следующие антитела идентифицировали в качестве положительных связывающих элементов с обеими линиями клеток: HC-17/LC-17 (то есть Ab17), HC-18/LC-18 (то есть Ab18), HC-19/LC-19 (то есть Ab19), HC-20/LC-20 (то есть Ab20), HC-21/LC-21 (то есть Ab21), HC-22/LC-22 (то есть Ab22), HC-23/LC-23 (то есть Ab23), HC-24/LC-24 (то есть Ab24), HC-25/LC-25 (то есть Ab25), HC-27/LC-27 (то есть Ab27) и HC-28/LC-28 (то есть Ab28).

Для подтверждения связывания с нужной мишенью очищенные антитела анализировали на связывание с очищенным рекомбинантным эктодоменом CD117 с

помощью биослойной интерферометрии. Анализ связывания антител, идентифицированных в результате иммунизации крыс, выявил широкий спектр кинетики ассоциации и диссоциации, как показано на фиг. 22 и 23. Наблюдаемые кинетические значения представлены в таблице 4 и таблице 15. В таблице 15 представлен список наблюдаемой моновалентной аффинности (K_D), наблюдаемой скорости ассоциации (k_{on}) и наблюдаемой скорости диссоциации (k_{dis}) указанного очищенного IgG с очищенным эктодоменом CD117 макаки-резуса. как представлено выше, в таблице 4 представлен список наблюдаемой моновалентной аффинности (K_D), наблюдаемой скорости ассоциации (k_{on}) и наблюдаемой скорости диссоциации (k_{dis}) указанного очищенного IgG (включая антитела, идентифицированные в этом примере) с очищенным человеческим эктодоменом CD117.

Таблица 15

	K_D (M)	k_{on} (1/ms)	k_{dis} (1/s)
017 (Ab17)	5,62E-10	3,07E+05	1,73E-04
018 (Ab18)	5,38E-08	2,21E+05	1,19E-02
019 (Ab19)	2,34E-09	1,77E+05	4,15E-04
020 (Ab20)	1,39E-09	4,21E+05	5,85E-04
021 (Ab21)	8,69E-10	4,10E+05	3,57E-04
022 (Ab22)	8,91E-11	1,74E+06	1,55E-04
023 (Ab23)	7,62E-09	2,80E+05	2,14E-03
024 (Ab24)	1,96E-08	3,97E+04	7,77E-04
025 (Ab25)	8,10E-10	2,41E+06	1,95E-03
027 (Ab27)	8,90E-10	3,09E+05	2,75E-04
028 (Ab28)	3,60E-09	5,21E+05	1,87E-03

Для подтверждения видов перекрестной реактивности антител, идентифицированных при скрининге гибридом крыс, очищенные антитела анализировали на связывание с очищенным эктодоменом CD117 макаки-резуса с помощью биослойной интерферометрии. Анализ связывания антител демонстрирует сильную перекрестную реактивность набора антител. Анализ наблюдаемых кинетических значений связывания с антигеном макаки-резуса (Таблица 15) демонстрирует сильную корреляцию с видимыми скоростями ассоциации и диссоциации, наблюдаемыми при связывании с человеческим антигеном (Таблица 4).

ТАБЛИЦА 16: Перечень аминокислотных последовательностей

Идентификатор Последовательности	Описание	Аминокислотная последовательность
SEQ ID NO:1	CK6 CDR-H1	SYWIG
SEQ ID NO:2	CK6 CDR-H2 Ab249 CDR-H2	IYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO:3	CK6 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:4	CK6 CDR-L1	RASQGISSALA
SEQ ID NO:5	CK6 CDR-L2	DASSLES
SEQ ID NO:6	CK6 CDR-L3	CQQFNSYPLT
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-1	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVSS
SEQ ID NO:8	Вариабельная область легкой цепи LC-1	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVSSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-2	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVSS
SEQ ID NO:9	Вариабельная область легкой цепи LC-2	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRTDL GWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGG TKVEIK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-3	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:10	Вариабельная область легкой цепи LC-3	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLA WYQQKPGKTPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK VEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-4	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:11	Вариабельная область легкой цепи LC-4	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK VDIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-5	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:12	Вариабельная область легкой цепи LC-5	NIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAISDYLA WFQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQ LNSYPLTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-6	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:13	Вариабельная область легкой цепи LC-6	AIRMTQSPSSLSASVGDRVIIACRASQGIGGALA WYQQKPGNAPKVLVYDASTLESGVPSRFSGGGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGGT KLEIK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-7	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO:14	Вариабельная область легкой цепи LC-7	DIAMTQSPSSL SAFVGDRVTITCRASQGISSLAW YQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTIRSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK LEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-8	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO:15	Вариабельная область легкой цепи LC-8	DIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKAGKAPKVLISDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLSISSLQPEDFATYYCQQFN GYPLTFGGGT KVDIK
SEQ ID NO:7	Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи HC-9	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO:16	Вариабельная область легкой цепи LC-9	AIRMTQSPSSL SASVGDRVTITCQASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTF TISSLQPEDIATYYCQQFN SYPLTFGGGT KLEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-10	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO:17	Вариабельная область легкой цепи LC-10	NIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASQGIGTSLAW YQQKPGKPPKLLIYDASSLESGVPSRLSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQS NSYPITFGQGTRL EIK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-11	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:18	Вариабельная область легкой цепи LC-11	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGDYLTW YQQKPGKAPKVLIIYGASSLQSGVPPRFSGSGSGT DFTLT VSSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTK LEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-12	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:19	Вариабельная область легкой цепи LC-12	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVRSTLA WYQQKPGKAPKLLIYDASILESGVPSRFSGSGSG TDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQFNGYPLTFGQGT RLEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-13	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:20	Вариабельная область легкой цепи LC-13	DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTK LEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-14	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:21	Вариабельная область легкой цепи LC-14	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSFLAW YQQKPGKAPKLLIYDASTLQSGVPSRFSGSASGT DFTLT ISSLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGGGTK VEIK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-15	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:22	Вариабельная область легкой цепи LC-15	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAW YQQKPGIGPKLLIYDASTLESGV PARFSGSGSRTD FTLTEGOLQPEDFATYYCQQFN GYPLTFGGGTKL EIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-16	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:23	Вариабельная область легкой цепи LC-16	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGEFOALA WYQEKPGKAPNLLIYDASSLESGVPSRFSGSGYG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGT KVDIK
SEQ ID NO:24	Вариабельная область тяжелой цепи HC-17	QIQLVQSGPELRKPGESVKISCKASGYTFTDYAM YWVKQAPGKGLKWMGWINTYT GKPTYADDFK GRFVFSLEASANTANLQISNLKNEDTATYFCARA RGLVDDYVMDAWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO:25	Вариабельная область легкой цепи LC-17	SYELIQPPSASVTLGNTVSLTCVGDELSKRYAQW YQQKPKDKTIVSVIYKDSERPSGISDRFSGSSSGTT ATLTIHGTLAEDEADYYCLSTYSDDNLPVFGGGT KLTVL
SEQ ID NO:26	Вариабельная область тяжелой цепи HC-18	EVQLQQYGAELGKPGT SVRLSCKVSGYNIRNTYI HWVNQRPGEGLEWIGRIDPTNGNTISAEKFKTK ATLTADTSSHTAYLQFSQLKSDDTAIYFCALNYE GYADYWGQGVMVTGSS
SEQ ID NO:27	Вариабельная область легкой цепи LC-18	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTINCKASQNINKYLN WYQQKVGEAPKRLIFKTN SLQTGIPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQTEDVATYFCFQYNIGYTFGAGTK VELK

SEQ ID NO:28	Вариабельная область тяжелой цепи HC-19	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSNYR WNWIRKFPGNKVEWMGYINSAGSTNYPNPSLKS RISMTRDTSKNQFFLQVNSVTTEDTATYYCARSL RGYITDYSGFFDYWGQGVMVTVSS
SEQ ID NO:29	Вариабельная область легкой цепи LC-19	DIRMTQSPASLSASLGETVNIECJA3ADIFSDLAW YQQKPGKSPQLLIYNANSLQNGVPSRFSGSGSGT RYSLKINSLQSEDVATYFCQQYKNYPLTFGSGTK LEIK
SEQ ID NO:30	Вариабельная область тяжелой цепи HC-20	EVQLQQYGAELGKPGTSVRLSCKLSGYKIRNTYI HWVNQRPGKGLEWIGRIDPANGNTIYAEKFKSK VTLTADTSSNTAYMQLSQLKSDDTALYFCAMN YEGYEDYWGQGVMVTVSS
SEQ ID NO:31	Вариабельная область легкой цепи LC-20	DIQMTQSPSFLSASVGDSVTINCKASQNINKYLN WYQQKLGEAPKRLIHKTDLSLQTGIPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDVATYFCFQYKSGFMFGAGTK LELK
SEQ ID NO:32	Вариабельная область тяжелой цепи HC-21	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAV YWVIQAPGKGLKWMGWINTYTGKPTYADDFKG RFVFSLETSASTANLQISNLKNEDTATYFCARGA GMTKDYVMDAWGRGVLVTVS
SEQ ID NO:33	Вариабельная область легкой цепи LC-21	SYELIQPPSASVTLGNTVSLTCVGDELSKRYAQW YQQKPKDTIVSVIYKDSERPSDISDRFSGSSSGTT ATLTIHGTLAEDEADYYCLSTYSDDNLPVFGGGT KLTVL
SEQ ID NO:34	Вариабельная область тяжелой цепи HC-22	QVQLKESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFSLTSYLV HWVRQPPGKTLEWVGLMWNDGDTSYNSALKS RLSISRDTSKSQVFLKMHSLSQAEDTATYYCARES NLGFTYWGHGTLVTVSS
SEQ ID NO:35	Вариабельная область легкой цепи LC-22	DIQMTQSPASLSASLEEIVTITCKASQGIDDDLSW YQQKPGKSPQLLIYDVTRLADGVPSRFSGSRSGT QYSLKISRQVADSGIYYCLQSYSTPYTFGAGTK LELK

SEQ ID NO:36	Вариабельная область тяжелой цепи HC-23	EVQLQQYGAE LGKPGTSVRLSCKVSGYNIRNTYI HWVHQRPGEGLEWIGRIDPTNGNTISAEKFKSKA TLTADTSSNTAYMQFSQLKSDDTAIYFCAMNYE GYADYWGQGVMVTVSS
SEQ ID NO:37	Вариабельная область легкой цепи LC-23	DIQMTQSPSFLSASVGDRLTINCKASQNINKYLN WYQQKLGEAPKRLIFKTNSLQTGIPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDVATYFCFQYNIGFTFGAGTKL ELK
SEQ ID NO:38	Вариабельная область тяжелой цепи HC-24	EVQLVESGGGLVQSGRSLKLSCAASGFTVSDYY MAWVRQAPTKGLEWVATINYDGSTTYHRDSVK GRFTISRDNAKSTLIILQMDSLRSEDATATYYCAR HGDYGYHYGAYYFDYWGQGVMVTVSS
SEQ ID NO:39	Вариабельная область легкой цепи LC-24	DIVLTQSPALAVSLGQRATISCRASQTVSLSGYN LIHWYQQRTGQQPKLLIYRASNLAPGIPARFSGS GSGTDFTLTISPVQSDDIATYYCQQSRESWTFGG GTNLEMK
SEQ ID NO:40	Вариабельная область тяжелой цепи HC-25	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAIH WVKQAPGQGLRWMAWINTETGKPTYADDFKG RFVFSLEASASTAHLQISNLKNEDTATFFCAGGS HWFAYWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO:41	Вариабельная область легкой цепи LC-25	SYELIQPPSASVTLENTVSITCSGDELSNKYAHW YQQKPKDKTILEVIYNDSE RPSGISDRFSGSSSGTT AILTIRDAQAED EADYYCLSTFSDDDLPIFGGGT KLTVL
SEQ ID NO:32	Вариабельная область тяжелой цепи HC-26	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAV YWVIQAPGKGLKWMGWINTYTGKPTYADDFKG RFVFSLETSASTANLQISNLKNEDTATYFCARGA GMTKDYVMDAWGRGV LTVS
SEQ ID NO:42	Вариабельная область легкой цепи LC-26	SYELIQPPSTSVTLGNTVSLTCVGNELPKRYAYW FQQKPDQSIVRLIYDDDRRPSGISDRFSGSSSGTT ATLTIRDAQAED EAYYYCHSTYTDDKVPIFGGG TKLTVL

SEQ ID NO:43	Вариабельная область тяжелой цепи HC-27	EVQLVESGGGLVQPGRSMKLSCKASGFTFSNYD MAWVRQAPTRGLEWVASISYDGITAYYRDSVK GRFTISRENAKSTЛИЛQLVSLRSEDATYYCTTE GGYVYSGPHYFDYWGGQGMVTVSS
SEQ ID NO:44	Вариабельная область легкой цепи LC-27	DIQMTQSPSSMSVSLGDTVITCRASQDVGIFVN WFQQKPGRSPRRMIYRATNLADGVPSRFSGSRS GSDYSLTISSLESEDVADYHCLQYDEFPRTFGGG TKLELK
SEQ ID NO:45	Вариабельная область тяжелой цепи HC-28	EVQLQQYGAEVGKPGTSVRLSCKVSGYKIRNTYI HWVNQRPKGLEWIGRIDPANGNTIYAEKFKSK VTLTADTSSNTAYMQLSQLKSDDTALYFCAMN YEGYEDYWGGQGMVTVSS
SEQ ID NO:46	Вариабельная область легкой цепи LC-28	DIQMTQSPSFLSASVGDSVTINCKASQNINKYLN WYQQKLGEAPKRLIHKTNLQPGFSPRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDVAAYFCFQYNSGFTFGAGTK LELK
SEQ ID NO:47	Вариабельная область тяжелой цепи HC-29	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY YIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPHSGDTGYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYC ARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLLTVTVSSAS
SEQ ID NO:48	Вариабельная область легкой цепи LC-29	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGNELG WYQQKPGKAPKLLIYAASNLSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDNLPLTFGQG TKVEIK
SEQ ID NO:49	Вариабельная область тяжелой цепи HC-30	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGY YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQN FQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYC ARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTLLTVTVSSAS
SEQ ID NO:50	Вариабельная область легкой цепи LC-30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGGGT KVEIK

SEQ ID NO:51	Вариабельная область тяжелой цепи HC-31	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGY YLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYC ARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:52	Вариабельная область легкой цепи LC-31	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASELETGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTK VEIK
SEQ ID NO:53	Вариабельная область тяжелой цепи HC-32	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY IHWVRQAPGQGLEWMGWLNPSSGGTSYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAR HGRGYDGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:54	Вариабельная область легкой цепи LC-32	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO:55	Вариабельная область тяжелой цепи HC-33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYY MHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMKLSSLRSEDТАVYYCAR HGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:56	Вариабельная область легкой цепи LC-33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRDDL WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPLTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO:57	Вариабельная область тяжелой цепи HC-34	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGY YIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGNTNYAQNFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAR HGRGYNAYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:58	Вариабельная область легкой цепи LC-34	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVNGYPLTFGGG TKVEIK

SEQ ID NO:59	Вариабельная область тяжелой цепи HC-35	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGVINPTVGGANYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAR HGRGYNEYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:60	Вариабельная область легкой цепи LC-35	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISDYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGGGT KLEIK
SEQ ID NO:61	Вариабельная область тяжелой цепи HC-36	QVQLVQSGAEVKKLGASVKVSCKASGYTFSSYY MHWVRQAPGQGLEWMGVINPNGAGTNFAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCA RHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:50	Вариабельная область легкой цепи LC-36	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO:62	Вариабельная область тяжелой цепи HC-37	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYY MHWVRQAPGQGLEWMGWINPTGGGTNYAQNF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCA RHGRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:63	Вариабельная область легкой цепи LC-37	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDVS WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLSGYPITFGQGT KLEIK
SEQ ID NO:64	Вариабельная область тяжелой цепи HC-38	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY IHWVRQAPGQGLEWMGMINPSGGSTNYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAR HGRGYNDYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:65	Вариабельная область легкой цепи LC-38	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISDWLA WYQQKPGKAPKLLIYEASNLEGGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPYTFGQG TKVEIK

SEQ ID NO:66	Вариабельная область тяжелой цепи HC-39	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSAYY IHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTRYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARH GRGYGGYEGAFDIWDQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:67	Вариабельная область легкой цепи LC-39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDYVA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGT RLEIK
SEQ ID NO:68	Вариабельная область тяжелой цепи HC-40	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTSYWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPDDSDTRYSPSFQGG VTISVDKSNSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG RGYNGYEGAFDIWGQGTTLVTVSSAS
SEQ ID NO:69	Вариабельная область легкой цепи LC-40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTYFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGQGT KVEIK
SEQ ID NO:70	Вариабельная область тяжелой цепи HC-41	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGSSFPNSWI AWVRQMPGKGLEWMGHIYPSDSDTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLEASDTAMYYCARHG RGYNGYEGAFDIWGQGTTLVTVSSAS
SEQ ID NO:71	Вариабельная область легкой цепи LC-41	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO:72	Вариабельная область тяжелой цепи HC-42	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFDSYWI GWVRQMPGKGLEWMGIMYPGDS TRYSPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GRGYNAYEGAFDIWGQGTTLVTVSSAS
SEQ ID NO:73	Вариабельная область легкой цепи LC-42	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINNWL WYQQKPGKAPKLLIYDAFILQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCLQLNSYPLTFGPGTK VDIK

SEQ ID NO:74	Вариабельная область тяжелой цепи HC-43	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNWIA WVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSETRYSPSFQGQV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGR GYGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:75	Вариабельная область легкой цепи LC-43	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGSDNLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAISFPLTFGQGT KVEIK
SEQ ID NO:76	Вариабельная область тяжелой цепи HC-44	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYNFTSYWI GWVRQMPGKGLEWMGVIYPDDSETRYSPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:77	Вариабельная область легкой цепи LC-44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDIRDDL WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO:78	Вариабельная область тяжелой цепи HC-45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFNTYIG WVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSGTRYSPSFQGQV TISADKAISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHSR GYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:79	Вариабельная область легкой цепи LC-45	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPVTFGQG TKVEIK
SEQ ID NO:80	Вариабельная область тяжелой цепи HC-46	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYNFTTYWI GWVRQMPGKGLEWMGIIHPADSDTRYNPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:81	Вариабельная область легкой цепи LC-46	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSQGISSYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGT KVEIK

SEQ ID NO:82	Вариабельная область тяжелой цепи HC-47	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFSNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIYPDNSDTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG RGYDGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:83	Вариабельная область легкой цепи LC-47	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRSDLA WYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLSFGQGTK VEIK
SEQ ID NO:84	Вариабельная область тяжелой цепи HC-48	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFASYWI GWVRQMPGKGLEWMGITYPGDSETRYNPSQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG RGYGGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:85	Вариабельная область легкой цепи LC-48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO:86	Вариабельная область тяжелой цепи HC-49	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWI GWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG RGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSSAS
SEQ ID NO:87	Вариабельная область легкой цепи LC-49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWL WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNSFPLTFGQGT RLEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-74	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVSS
SEQ ID NO:88	Вариабельная область легкой цепи LC-74	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAW YQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTK VEIK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-75	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:89	Вариабельная область легкой цепи LC-75	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR SALAW YQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGGTK VEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-76	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:90	Вариабельная область легкой цепи LC-76	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGGTK VEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-77	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:91	Вариабельная область легкой цепи LC-77	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAW YQQKPGKAPKLLIYDASILESGVPSRFS GSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGGTKVE IK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-78	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:92	Вариабельная область легкой цепи LC-78	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR SALAW YQQKPGKAPKLLIYDASILESGVPSRFS GSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGGTKVE IK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-79	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:93	Вариабельная область легкой цепи LC-79	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASILESGVPSRFS GSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK VEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-80	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:94	Вариабельная область легкой цепи LC-80	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAW YQQKPGKAPKLLIYDASILESGVPSRFS GSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TKVE IK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-81	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:95	Вариабельная область легкой цепи LC-81	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVISALAW YQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFS GSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK VEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-82	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:96	Вариабельная область легкой цепи LC-82	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRSALAW YQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFS GSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK VEIK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-83	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:97	Вариабельная область легкой цепи LC-83	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK VEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-84	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:97	Вариабельная область легкой цепи LC-84	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGG TK VEIK
SEQ ID NO:98	Вариабельная область тяжелой цепи HC-245	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARHG LGYNNGYEGAFDIWGQGT LTVTVSS
SEQ ID NO:99	Вариабельная область легкой цепи LC-245	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN GYPLTFGQGT RLEIK
SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-246	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:99	Вариабельная область легкой цепи LC-246	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN GYPLTFGQGT RLEIK

SEQ ID NO:7	Вариабельная область тяжелой цепи HC-247	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTTYW IGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDSSTRYSPSFQG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:100	Вариабельная область легкой цепи LC-247	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRGISDYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGT RLEIK
SEQ ID NO:98	Вариабельная область тяжелой цепи HC-248	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDSSTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG LGYNNGYEGAFDIWGQGTLLTVTVSS
SEQ ID NO:101	Вариабельная область легкой цепи LC-248	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGQGT RLEIK
SEQ ID NO:98	Вариабельная область тяжелой цепи HC-249	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDSSTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG LGYNNGYEGAFDIWGQGTLLTVTVSS
SEQ ID NO:102	Вариабельная область легкой цепи LC-249	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGQG TRLEIK
SEQ ID NO:143	Вариабельная область тяжелой цепи Ab85	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMAINPRSDTRYRPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GRGYEGYEGAFDIWGQGTLLTVTVSS
SEQ ID NO:144	Вариабельная область легкой цепи Ab85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQGIRSDLGW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPLTFGGGTK VEIK
SEQ ID NO:145	Ab85 CDR-H1	NYWIG

SEQ ID NO:146	Ab85 CDR-H2	IINPRDS DTRYRPSFQG
SEQ ID NO:147	Ab85 CDR-H3	HGRGYEGYEGAFDI
SEQ ID NO:148	Ab85 CDR-L1	RSSQGIRSDLG
SEQ ID NO:149	Ab85 CDR-L2 Ab249 CDR-L2	DASNLET
SEQ ID NO:150	Ab85 CDR-L3	QQANGFPLT
SEQ ID NO:151	Вариабельная область тяжелой цепи Ab86	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS DIRYSPSLQGQ VTISVDTSTSTAYLQWNSLKPSDTAMYYCARHG RGYNGYEGAFDIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO:152	Вариабельная область легкой цепи Ab86	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDSL A WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGT KVEIK
SEQ ID NO:145	Ab86 CDR-H1	NYWIG
SEQ ID NO:153	Ab86 CDR-H2	IIYPGDS DIRYSPSLQG
SEQ ID NO:3	Ab86 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:154	Ab86 CDR-L1	RASQGIGDSL A
SEQ ID NO:149	Ab86 CDR-L2	DASNLET
SEQ ID NO:155	Ab86 CDR-L3	QQLNGYPIT
SEQ ID NO:143	Вариабельная область тяжелой цепи Ab87	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMAIINPRDS DTRYRPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GRGYEGYEGAFDIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:156	Вариабельная область легкой цепи Ab87	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTK VEIK
SEQ ID NO:145	Ab87 CDR-H1	NYWIG
SEQ ID NO:146	Ab87 CDR-H2	IINPRDS DTRYRPSFQG
SEQ ID NO:147	Ab87 CDR-H3	HGRGYEGYEGAFDI
SEQ ID NO:157	Ab87 CDR-L1	RASQGIRNDLG
SEQ ID NO:5	Ab87 CDR-L2	DASSLES
SEQ ID NO:155	Ab87 CDR-L3	QQLNGYPIT
SEQ ID NO:158	Вариабельная область тяжелой цепи Ab88	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDSLTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG RGYNGYEGAFDIWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO:156	Вариабельная область легкой цепи Ab88	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGTK VEIK
SEQ ID NO:145	Ab88 CDR-H1	NYWIG
SEQ ID NO:159	Ab88 CDR-H2	IYPGDSLTRYSPSFQG
SEQ ID NO:3	Ab88 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:157	Ab88 CDR-L1	RASQGIRNDLG
SEQ ID NO:5	Ab88 CDR-L2	DASSLES

SEQ ID NO:155	Ab88 CDR-L3	QQLNGYPIT
SEQ ID NO:160	Вариабельная область тяжелой цепи Ab89	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARHG RGYNGYEGAFDIWGQGTLTVSS
SEQ ID NO:152	Вариабельная область легкой цепи Ab89	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGDSL A WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFS GSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLNGYPITFGQGT KVEIK
SEQ ID NO:145	Ab89 CDR-H1	NYWIG
SEQ ID NO:2	Ab89 CDR-H2	IIYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO:3	Ab89 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:154	Ab89 CDR-L1	RASQGIGDSL A
SEQ ID NO:149	Ab89 CDR-L2	DASNLET
SEQ ID NO:155	Ab89 CDR-L3	QQLNGYPIT
SEQ ID NO:161	Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи СК6	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTSYW IGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGG QVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVSS
SEQ ID NO:162	Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи СК6	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAW YQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGG TK VEIK
SEQ ID NO:163	Ab77 CDR-H1	TYWIG
SEQ ID NO:2	Ab77 CDR-H2	IIYPGDS DTRYSPSFQG

SEQ ID NO:3	Ab77 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:164	Ab77 CDR-L1	RASQGVISALA
SEQ ID NO:165	Ab77 CDR-L2	DASILES
SEQ ID NO:166	Ab77 CDR-L3	QQFNSYPLT
SEQ ID NO:163	Ab79 CDR-H1	TYWIG
SEQ ID NO:2	Ab79 CDR-H2	IIYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO:3	Ab79 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:167	Ab79 CDR-L1	RASQGVGSALA
SEQ ID NO:165	Ab79 CDR-L2	DASILES
SEQ ID NO:166	Ab79 CDR-L3	QQFNSYPLT
SEQ ID NO:163	Ab81 CDR-H1	TYWIG
SEQ ID NO:2	Ab81 CDR-H2	IIYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO:3	Ab81 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:164	Ab81 CDR-L1	RASQGVISALA
SEQ ID NO:168	Ab81 CDR-L2	DASTLES
SEQ ID NO:166	Ab81 CDR-L3	QQFNSYPLT

SEQ ID NO:169	Константная область тяжелой цепи (Дикого типа (WT))	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:170	Мутации константной области тяжелой цепи с L234A, L235A (LALA) (мутации выделены жирным шрифтом)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:171	Мутации константной области тяжелой цепи с D265C (мутации выделены жирным шрифтом)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:172	Мутации константной области тяжелой цепи с H435A (мутация выделены жирным шрифтом)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNAYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:173	Константная область тяжелой цепи: модифицированная область Fc с мутациями L234A, L235A, D265C (мутации выделены жирным шрифтом)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:174	Константная область тяжелой цепи: модифицированная область Fc с мутациями L234A, L235A, D265C, H435A (мутации выделены жирным шрифтом)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNAYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:175	полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab85; константная область подчеркнута	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMAIINPRDSDTRYRPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYEGYEGAFDIWGQGT LVTVSS <u>ASTKGPSVF</u> <u>PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO:176	Полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab85; константная область подчеркнута; модифицированная область Fc с мутациями L234A, L235A (мутации выделены жирным шрифтом)*	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMAIINPRDSDTRYRPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYEGYEGAFDIWGQGT LVTVSS <u>ASTKGPSVF</u> <u>PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>

SEQ ID NO:177	Полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab85: константная область подчеркнута; модифицированная область Fc с мутациями L234A, L235A, D265C (мутации выделены жирным шрифтом)*	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMAIINPRDSDTRYRPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYEGYEGAFDIWGQGT LVTVSS <u>ASTKGPSVF</u> <u>PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO:178	Полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab85 (мутация LALA - D265C - H435A); константная область подчеркнута	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI GWVRQMPGKGLEWMAIINPRDSDTRYRPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARH GRGYEGYEGAFDIWGQGT LVTVSS <u>ASTKGPSVF</u> <u>PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNAYTQKSLSLSPGK</u>

SEQ ID NO:179	Полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab249; константная область подчеркнута	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG LGYNGYEGAFDIWGQGLTVTVSS <u>ASTKGPSVFP</u> <u>LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO:180	Полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab249; константная область подчеркнута (мутации LALA)*	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG LGYNGYEGAFDIWGQGLTVTVSS <u>ASTKGPSVFP</u> <u>LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>

SEQ ID NO:181	Полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab249; константная область подчеркнута (мутации LALA - D265C)*	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG LGYNGYEGAFDIWGQGLTVTVSS <u>ASTKGPSVFP</u> <u>LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO:182	Полноразмерная последовательность тяжелой цепи Ab249; константная область подчеркнута; (мутации LALA - D265C - H435A)*	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWI GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHG LGYNGYEGAFDIWGQGLTVTVSS <u>ASTKGPSVFP</u> <u>LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLG</u> <u>TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN</u> <u>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNAYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO:183	Константная область легкой цепи	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

SEQ ID NO:184	полноразмерная легкая цепь Ab85; константная область подчеркнута	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQGIRSDLGW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPLTFGGGTK <u>VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN</u> <u>FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD</u> <u>STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP</u> <u>VTKSFNRGEC</u>
SEQ ID NO:185	легкая цепь Ab249; константная область подчеркнута	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGQG TRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL <u>NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS</u> <u>KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL</u> <u>SSPVTKSFNRGEC</u>
SEQ ID NO:186	Ab249 HC-CDR1	TSWIG
SEQ ID NO:187	Ab249 HC-CDR3	HGLGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO:188	Ab249 LC-CDR1	RASQGIGSALA
SEQ ID NO:189	Ab249 LC-CDR3	CQQLNGYPLT

Другие Варианты Осуществления

Все публикации, патенты и патентные заявки, упомянутые в этом описании, включены в данный документ посредством ссылки в той же мере, как если бы было указано, что каждая независимая публикация или патентная заявка конкретно и отдельно включена посредством ссылки.

Хотя изобретение было описано в связи с их конкретными вариантами осуществления, должно быть понятно, что допускаются дополнительные модификации, и эта заявка предназначена охватывать любые отклонения, варианты применения или адаптации изобретения, следующие в общих чертах принципам изобретения и в том числе такие отклонения от изобретения, которые попадают в рамки известной или общепринятой практики в области, к которой относится настоящее изобретение, и которые могут быть применены к существенным признакам, изложенным выше и представленным в объеме формулы изобретения.

Другие варианты осуществления представлены в формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:146, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:147; и содержащие переменную область легкой цепи, содержащую CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:150.

2. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:144.

3. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и содержащие вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:154, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155.

4. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:151, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152.

5. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:146, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:147; и содержащие переменную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155.

6. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156.

7. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент,

22. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:163, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и содержащие вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:164, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:165, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:166.

23. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:91.

24. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие тяжелую цепь, содержащую наборы CDR тяжелой цепи (CDR1, CDR2 и CDR3), представленные в аминокислотных последовательностях тяжелой цепи, описанных в таблице 1, таблице 6 или таблице 8, и легкую цепь, содержащую наборы CDR тяжелой цепи (CDR1, CDR2 и CDR3), представленные в аминокислотных последовательностях легкой цепи, описанных в таблице 1, таблице 6 или таблице 8.

25. Выделенное антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, как представлено в таблице 1, таблице 6 или таблице 8, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи, как представлено в таблице 1, таблице 6 или таблице 8.

26. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-25, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент имеет скорость диссоциации (KOFF) от 1×10^{-2} до 1×10^{-3} , от 1×10^{-3} до 1×10^{-4} , от 1×10^{-5} до 1×10^{-6} , от 1×10^{-6} до 1×10^{-7} или от 1×10^{-7} до 1×10^{-8} при измерении с помощью биослойной интерферометрии (BLI).

27. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-25, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает CD117 с KD приблизительно 100 нМ или менее, приблизительно 90 нМ или менее, приблизительно 80 нМ или менее, приблизительно 70 нМ или менее, приблизительно 60 нМ или менее, приблизительно 50 нМ или менее, приблизительно 40 нМ или менее, приблизительно 30 нМ или менее, приблизительно 20 нМ или менее, приблизительно 10 нМ или менее, приблизительно 8 нМ или менее, приблизительно 6 нМ или менее, приблизительно 4 нМ или менее, приблизительно 2 нМ или менее, приблизительно 1 нМ или менее при определении с помощью анализа биослойной интерферометрии (BLI).

28. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-27, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим.

29. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28, где антителом является интактное антитело.

30. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из

пп. 1-29, где антитело является IgG.

31. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 30, где IgG является IgG1 или IgG4.

32. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-31, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет моноклональное антитело.

33. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-31, содержащие константную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169, и/или константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:183.

34. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-33, содержащие область Fc, содержащую по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из группы, состоящей из D265C, H435A, L234AA и L235A (нумерация согласно индексу EC).

35. Антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 34, в котором область Fc содержит аминокислотные замены D265C, L234A и L235A (нумерация согласно индексу EC).

36. Интактное человеческое антитело против CD117, содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:184, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO 175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177 и SEQ ID NO:178.

37. Интактное человеческое антитело против CD117, содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:185, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO 179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181 и SEQ ID NO:182.

38. Способ истощения популяции клеток CD117+ у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку антитела по любому из пп. 1-37.

39. Способ по п. 38, где пациент-человек нуждается в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

40. Способ лечения субъекта-человека, имеющего гемобластоз, включающий введение антител против CD117 или их антигенсвязывающих фрагментов по любому из пп. 1-37 субъекту-человеку, имеющему гемобластоз.

41. Способ по п. 40, в которой гемобластоз представляет лейкоз.

42. Фармацевтическая композиция, содержащая антитела или их антигенсвязывающие участки по любому из пп. Ошибка! Не найден источник ссылки-37 и фармацевтически приемлемый носитель.

43. Конъюгат, содержащий антитело против CD117, конъюгированное с цитотоксином посредством линкера, где антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающий участок по любому из пп. Ошибка! Не найден источник ссылки-37.

44. Конъюгат по п. 43, в котором цитотоксин выбран из группы, состоящей из

аматоксина, экзотоксина А синегнойной палочки, дебуганина, дифтерийного токсина, сапорина, майтансина, майтанзиноида, ауристатина, антрациклина, калихимицина, иринотекана, SN-38, дуокармицина, пирролбензодиазефина, димера пирролбензодиазефина, индолинбензодиазефина и димера индолинбензодиазефина.

45. Конъюгат по п. 44, в котором аматоксин выбран из группы, состоящей из α -аманитина, β -аманитина, γ -аманитина, ε -аманитина, амина, аминамида, амануллина, амануллиновой кислоты и проамануллина.

46. Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), содержащий выделенное антитело против CD117, конъюгированное с цитотоксином посредством линкера, где антитело содержит

(i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:146, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:147; и содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:150;

(ii) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:144;

(iii) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:154, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155;

(iv) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:151, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152;

(v) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:146, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:147; и содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155;

(vi) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156;

последовательность SEQ ID NO:98, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:101.

47. ADC по п. 46, в котором цитотоксин выбран из группы, состоящей из аматоксина, ауристатина, майтансина, майтанзиноида, пирролбензодиазепина и димера пирролбензодиазепина.

48. Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), представленный формулой Ab-Z-L-Am, в которой Ab представляет антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают CD117, L представляет линкер, Z представляет химический фрагмент, а Am представляет аматоксин, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:146, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:147; и содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:150;

(ii) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:144;

(iii) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:154, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155;

(iv) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:151, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152;

(v) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:146, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:147; и содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155;

(vi) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156;

последовательность SEQ ID NO:98, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:101.

49. ADC по п. 48, в котором Am-L-Z представлен формулой (I)

(I)

где R1 представляет H, OH, ORA или ORC;

R2 представляет H, OH, ORB или ORC;

RA и RB, при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R3 представляет H, RC или RD;

R4, R5, R6 и R7 каждый независимо представляет H, OH, ORC, ORD, RC или RD;

R8 представляет OH, NH₂, ORC, ORD, NHRC или NRCRD;

R9 представляет H, OH, ORC или ORD;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

RC представляет -L-Z;

RD представляет необязательно замещенный C1-C6 алкил, необязательно замещенный C1-C6 гетероалкил, необязательно замещенный C2-C6 алкенил, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкенил, необязательно замещенный C2-C6 алкинил, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет необязательно замещенный C1-C6 алкилен, необязательно замещенный C1-C6 гетероалкилен, необязательно замещенный C2-C6 алкенилен, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкенилен, необязательно замещенный C2-C6 алкинилен, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкинилен, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, - (C=O)-, пептид или их комбинацию; а

Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента,

при этом Am содержит ровно один RC заместитель.

50. ADC по п. 49, в которой L-Z представляет
или

51. ADC по п. 48, в котором Am-L-Z представлен формулой (IA).

(IA)

где R1 представляет H, OH, ORA или ORC;

R2 представляет H, OH, ORB или ORC;

RA и RB, при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R3 представляет H, RC или RD;

R4, R5, R6 и R7 каждый независимо представляет H, OH, ORC, ORD, RC или RD;

R8 представляет OH, NH₂, ORC, ORD, NHRC или NRCRD;

R9 представляет H, OH, ORC или ORD;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

RC представляет -L-Z;

RD представляет необязательно замещенный C1-C6 алкил, необязательно замещенный C1-C6 гетероалкил, необязательно замещенный C2-C6 алкенил, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкенил, необязательно замещенный C2-C6 алкинил, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет необязательно замещенный C1-C6 алкилен, необязательно замещенный C1-C6 гетероалкилен, необязательно замещенный C2-C6 алкенилен, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкенилен, необязательно замещенный C2-C6 алкинилен, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкинилен, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, - (C=O)-, пептид или их комбинацию; а

Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента,

при этом Am содержит ровно один RC заместитель.

52. ADC по п. 51, в котором L-Z представляет

53. ADC по п. 48, в котором Am-L-Z представлен формулой (IB).

(IB)

где R1 представляет H, OH, ORA или ORC;

R2 представляет H, OH, ORB или ORC;

RA и RB, при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием необязательно замещенной 5-членной гетероциклоалкильной группы;

R3 представляет H, RC или RD;

R4, R5, R6 и R7 каждый независимо представляет H, OH, ORC, ORD, RC или RD;

R8 представляет OH, NH₂, ORC, ORD, NHRC или NRCRD;

R9 представляет H, OH, ORC или ORD;

X представляет -S-, -S(O)- или -SO₂-;

RC представляет -L-Z;

RD представляет необязательно замещенный C1-C6 алкил, необязательно замещенный C1-C6 гетероалкил, необязательно замещенный C2-C6 алкенил, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкенил, необязательно замещенный C2-C6 алкинил, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

L представляет необязательно замещенный C1-C6 алкилен, необязательно замещенный C1-C6 гетероалкилен, необязательно замещенный C2-C6 алкенилен, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкенилен, необязательно замещенный C2-C6 алкинилен, необязательно замещенный C2-C6 гетероалкинилен, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный гетероциклоалкилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дипептид, - (C=O)-, пептид или их комбинацию; а

Z представляет химический фрагмент, образованный в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на L, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента,

при этом Am содержит ровно один RC заместитель.

54. Способ по п. 53, в котором L-Z представляет

55. ADC по п. 48, в котором Am-L-Z представлен формулой (II), формулой ПА или формулой ПВ

(II)

(IIA)

(IIB),

где X представляет S, SO или SO₂;

R1 представляет H или линкер, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; а

R2 представляет H или линкер, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством химического фрагмента Z, образованного в результате реакции связывания между реакционноспособным заместителем, имеющимся на линкере, и реакционноспособным заместителем, имеющимся внутри антитела или его антигенсвязывающего фрагмента;

где, когда R1 представляет H, R2 представляет линкер, а когда R2 представляет H, R1 представляет линкер.

56. ADC по п. 55, где X представляет SO, R1 представляет линкер, а R2 представляет

Н.

57. ADC по п. 55, в котором L-Z представляет

58. ADC по любому из пп. 48-57, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгирован с аматоксином посредством цистеинового остатка в домене Fc антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

59. ADC по п. 58, в котором остаток цистеина вводят посредством мутации в домене Fc антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

60. ADC по п. 58 или 59, в котором остаток цистеина выбран из группы, состоящей из Cys118, Cys239 и Cys265 (нумерация согласно индексу EC).

61. ADC по п. 49, 51 или 53, где R1 представляет H, OH или ORA;

R2 представляет H, OH или ORB;

RA и RB, при наличии, вместе с атомами кислорода, с которыми они связаны, объединены с образованием:

R3, R4, R6 и R7 каждый представляет H;

R5 представляет ORC;

R8 представляет OH или NH₂; а

R9 представляет H или OH.

62. ADC по п. 49, 51 или 53, где R1 и R2 каждый независимо представляет H или OH;

R3 представляет RC;

R4, R6 и R7 каждый представляет H;

R5 представляет H, OH или OC1-C6 алкил;

R8 представляет OH или NH₂; а

R9 представляет H или OH.

63. ADC по п. 49, 51 или 53, где R1 и R2 каждый независимо представляет H или OH;

R3, R6 и R7 каждый представляет H;

R4 представляет ORC или RC;

R5 представляет H, OH или OC1-C6 алкил;

R8 представляет OH или NH₂; а

R9 представляет H или OH.

64. ADC по п. 49, 51 или 53, где R1 и R2 каждый независимо представляет H или OH;

R3, R6 и R7 каждый представляет H;

R4 и R5 каждый независимо представляет H или OH;

R8 представляет ORC или NHRC; а

R9 представляет H или OH.

65. Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), представленный либо
либо

где Ab представляет антитело против CD117 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие

последовательность SEQ ID NO:158, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156;

(ix) варибельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и содержащие варибельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:154, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155;

(x) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:160, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152;

(xi) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:102;

(xii) варибельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:186, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и содержащие варибельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:188, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:189;

(xiii) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99;

(xiv) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99;

(xv) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:100; или

(xvi) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:101.

66. Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), представленный любой формулой из следующих:

(IV) (IVA) (IVB)

при этом где X представляет S, SO или SO₂; или

NO:5, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155;

(viii) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156;

(ix) переменную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и содержащие переменную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:154, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155;

(x) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:160, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152;

(xi) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:102;

(xii) переменную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:186, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и содержащие переменную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:188, домен CDR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, и домен CDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:189;

(xiii) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99;

(xiv) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99;

(xv) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:100; или

(xvi) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:101.

67. ADC по любому из пп. 46-66, в котором антитело или его антигенсвязывающие фрагмент интернализируется клеткой CD117+.

68. ADC по любому из пп. 46-66, в котором антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент связывает CD117 с Kd от приблизительно 0,1 пМ до приблизительно 1 мкМ при определении с помощью BLI.

69. ADC по любому из пп. 46-66, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CD117 с KD приблизительно 100 нМ или менее, приблизительно 90 нМ или менее, приблизительно 80 нМ или менее, приблизительно 70 нМ или менее, приблизительно 60 нМ или менее, приблизительно 50 нМ или менее, приблизительно 40 нМ или менее, приблизительно 30 нМ или менее, приблизительно 20 нМ или менее, приблизительно 10 нМ или менее, приблизительно 8 нМ или менее, приблизительно 6 нМ или менее, приблизительно 4 нМ или менее, приблизительно 2 нМ или менее, приблизительно 1 нМ или менее при определении с помощью анализа биослойной интерферометрии (BLI)

70. ADC по любому из пп. 46-66, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CD117 с kOFF от приблизительно 1×10^{-3} с⁻¹ до приблизительно 1×10^6 с⁻¹ при определении с помощью BLI.

71. ADC по любому из пп. 46-66, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CD117 с kOFF от 1×10^{-2} до 1×10^{-3} , от 1×10^{-3} до 1×10^{-4} , от 1×10^{-5} до 1×10^{-6} , от 1×10^{-6} до 1×10^{-7} или от 1×10^{-7} до 1×10^{-8} при измерении с помощью биослойной интерферометрии (BLI).

72. ADC по любому из пп. 46-71, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим.

73. ADC по любому из пп. 46-72, в котором антителом является интактное антитело.

74. ADC по любому из пп. 46-73, в котором антитело является IgG.

75. ADC по п. 74, в котором IgG является IgG1 или IgG4.

76. ADC по любому из пп. 46-75, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет моноклональное антитело.

77. ADC по любому из пп. 46-76, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит константную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169, и/или константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:183.

78. ADC по любому из пп. 46-77, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область Fc, содержащую по меньшей мере одну аминокислотную замену, выбранную из группы, состоящей из D265C, H435A, L234AA и L235A (нумерация согласно индексу EC).

79. ADC по п. 78, в котором область Fc содержит D265C, L234A и L235A (нумерация согласно индексу EC).

80. ADC по любому из пп. 46-76, в котором антителом является интактное антитело, содержащее либо

а) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:184, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO 175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177 и SEQ ID NO:178; либо

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:185, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO 179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181 и SEQ ID NO:182.

81. Способ истощения популяции клеток CD117+ у пациента-человека, где способ включает введение пациенту эффективного количества ADC по любому из пп. 46-80.

82. Способ истощения популяции клеток CD117+ у пациента-человека, нуждающегося в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, где способ включает введение пациенту эффективного количества ADC по любому из пп. 46-80 перед получением пациентом трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки.

83. Способ, включающий:

а. введение пациенту-человеку ADC по любому из пп. 46-80 в количестве, достаточном для истощения у пациента популяции клеток CD117+; и

б. затем, введение пациенту трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки.

84. Способ по любому из пп. 81-83, в котором CD117 представляет собой GNNK+ CD117.

85. Способ по любому из пп. 81-84, в котором ADC после введения пациенту интернализируется раковой клеткой, аутоиммунной клеткой или гемопоэтической стволовой клеткой.

86. Способ по любому из пп. 81-84, в котором трансплантат, содержащий гемопоэтические стволовые клетки, вводят пациенту после того, как в крови пациента по существу не содержится концентрация ADC.

87. Способ по любому из пп. 81-84, в котором гемопоэтические стволовые клетки или их потомство сохраняют функциональный потенциал гемопоэтических стволовых клеток спустя два и более дней после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток пациенту.

88. Способ по любому из пп. 81-87, в котором гемопоэтические стволовые клетки или их потомство способны локализоваться в гемопоэтической ткани и/или восстанавливать гемопоэз после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток пациенту.

89. Способ по любому из пп. 81-88, в котором при трансплантации пациенту гемопоэтические стволовые клетки вызывают восстановление популяции клеток, выбираемых из группы, состоящей из мегакариоцитов, тромбоцитов, кровяных пластинок, эритроцитов, тучных клеток, миелобластов, базофилов, нейтрофилов, эозинофилов, микроглий, гранулоцитов, моноцитов, остеокластов, антигенпрезентирующих клеток, макрофагов, дендритных клеток, клеток естественные киллеры, Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов.

90. Способ по любому из пп. 81-89, в котором у пациента имеется нарушение функции стволовых клеток.

91. Способ по любому из пп. 81-89, в котором у пациента имеется заболевание

гемоглобинопатия, миелодиспластическое заболевание, иммунодефицитное состояние или нарушение обмена веществ.

92. Способ по п. 91, в котором заболевание гемоглобинопатию выбран из группы, состоящей из серповидноклеточной анемии, талассемии, анемии Фанкони, апластической анемии и синдрома Вискотта-Олдрича.

93. Способ по п. 91, в котором иммунодефицитное состояние представляет врожденный иммунодефицит или приобретенный иммунодефицит.

94. Способ по п. 93, в котором приобретенный иммунодефицит связан с вирусом иммунодефицита человека или представляет собой синдром приобретенного иммунодефицита.

95. Способ по п. 91, в котором нарушение обмена веществ выбран из группы, состоящей из болезни накопления гликогена, мукополисахаридозов, болезни Гоше, болезни Гурлера, сфинголипидоза и метахроматической лейкодиетрофии.

96. Способ по любому из пп. 81-89, в котором у пациента имеется рак.

97. Способ по п. 96, в котором рак выбран из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, множественной миеломы и нейробластомы.

98. Способ по п. 96, в котором рак представляет гемобластоз.

99. Способ по п. 98, в котором гемобластоз представляет острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз или множественная миелома.

100. Способ по п. 96, в котором раком является диффузная В-крупноклеточная лимфома или неходжкинская лимфома.

101. Способ по любому из пп. 81-89, в котором у пациента имеется заболевание, выбираемое из группы, состоящей из аденозиндезаминазной недостаточности и тяжелого комбинированного иммунодефицита, синдрома гипериммуноглобулина М, болезни Чедиака-Хигаши, наследственного лимфогистиоцитоза, остеопетроза, незавершенного остеогенеза, болезней накопления, большой талассемии, системного склероза, системной красной волчанки, рассеянного склероза и ювенильного ревматоидного артрита.

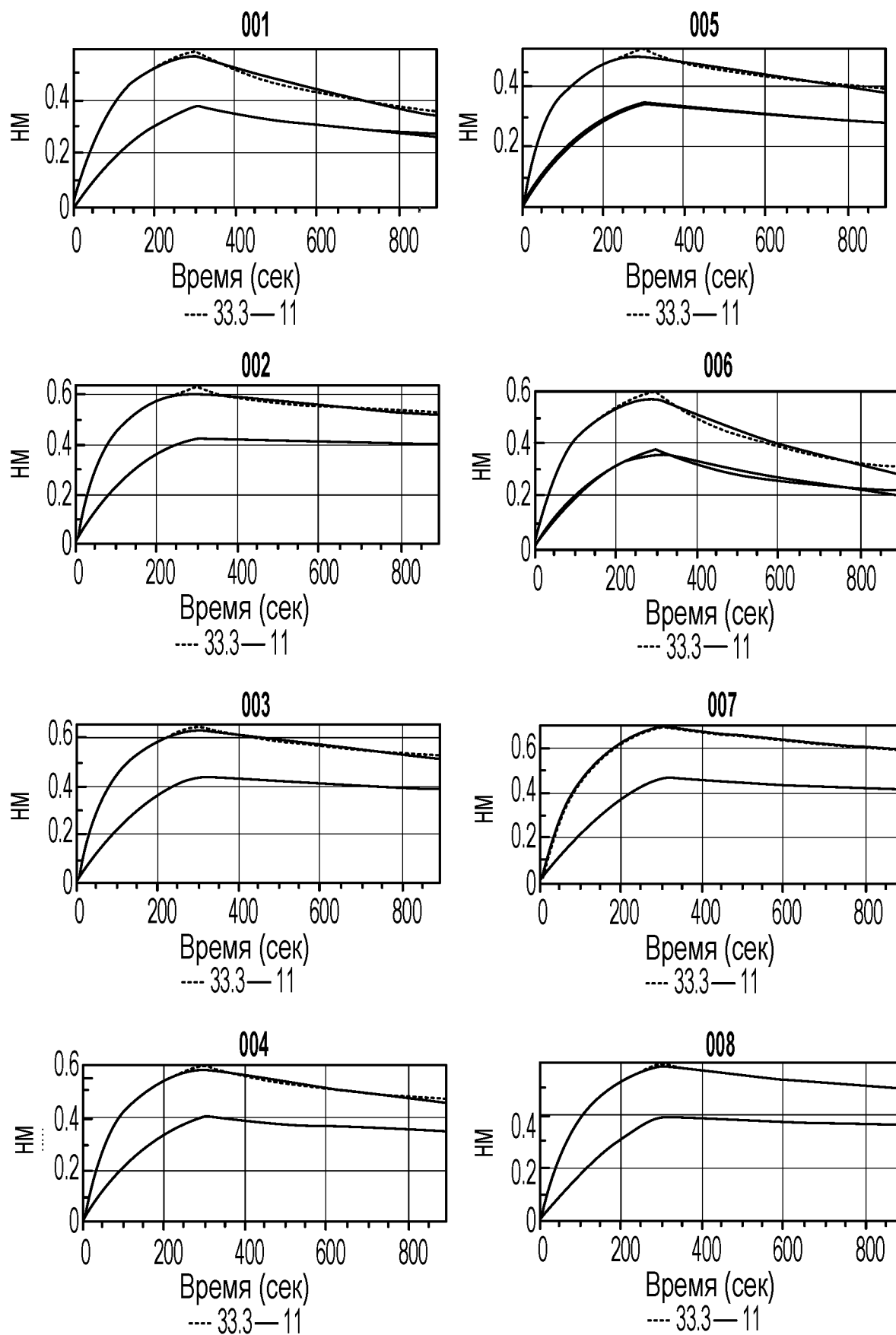
102. Способ по любому из пп. 81-89, в котором у пациента имеется аутоиммунное заболевание.

103. Способ по п. 102, в котором аутоиммунное заболевание выбран из группы, состоящей из рассеянного склероза, системной красной волчанки, ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника, псориаза, сахарного диабета 1 типа, острого рассеянного энцефаломиелита, болезни Аддисона, универсальной алопеции, анкилозирующего спондилита, синдрома антифосфолипидных антител, апластической анемии, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунного гепатита, аутоиммунного заболевания внутреннего уха, аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома, аутоиммунного оофорита, болезни Бало, болезни Бехчета, буллезного пемфигоида, кардиомиопатии, болезни Шагаса, синдрома хронической усталости и иммунной дисфункции, хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии, болезни

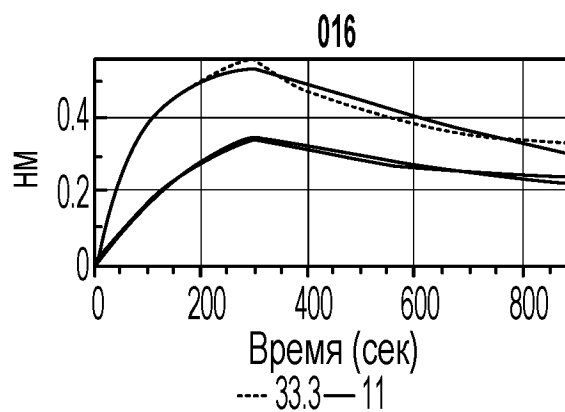
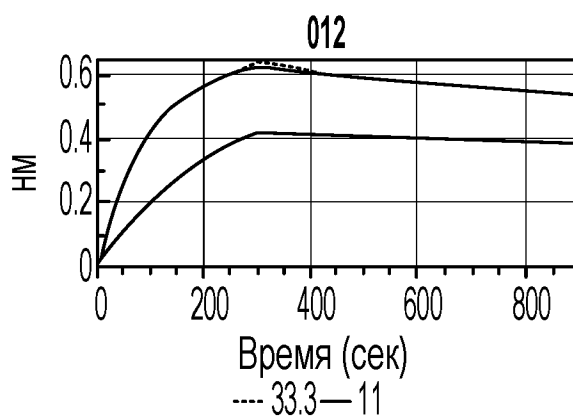
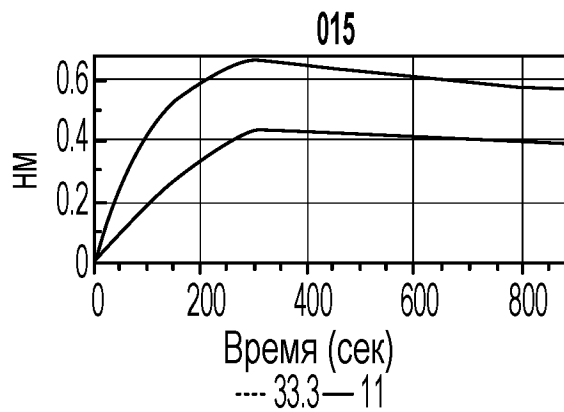
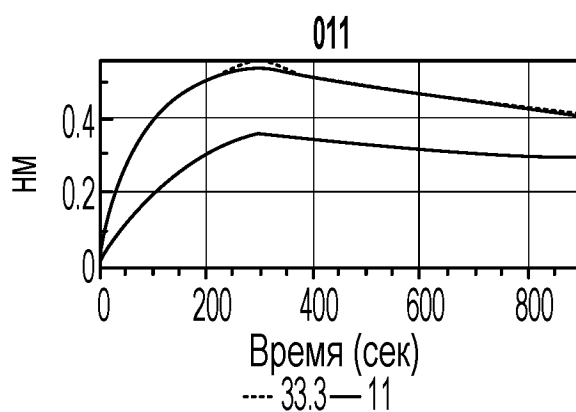
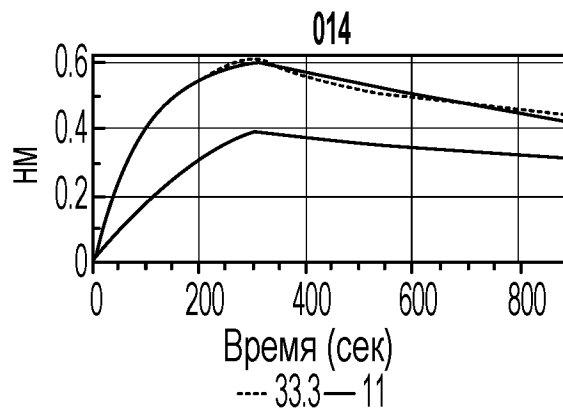
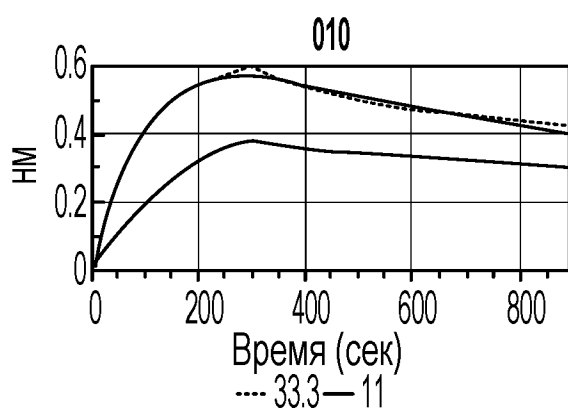
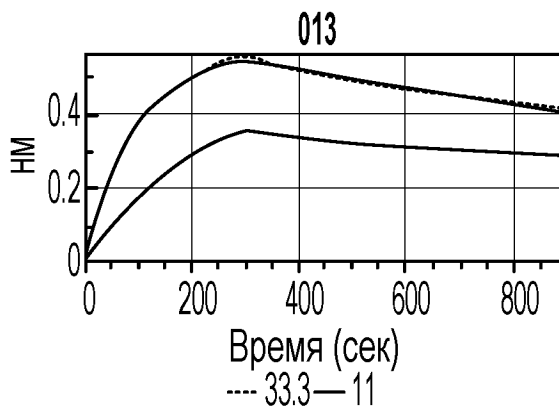
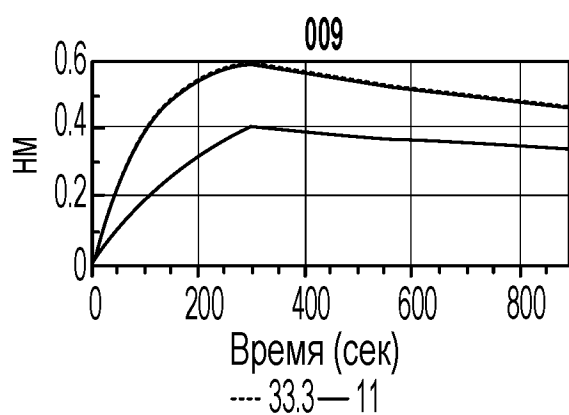
Крона, рубцового пемфигоида, герпетиформного дерматита, ассоциированного с глютенной энтеропатией, холодовой агглютининовой болезни, CREST-синдрома, синдрома Дегоса, дискоидной волчанки, вегето-сосудистой дистонии, эндометриоза, первичной криоглобулинемии смешанного типа, фибромиалгии-фибромиозита, синдрома Гудпасчера, заболевания Грейвса, синдрома Гийена-Барре, тиреоидита Хашимото, гнойного гидраденита, идиопатической и/или острой тромбоцитопенической пурпury, идиопатического легочного фиброза, IgA-нефропатии, интерстициального цистита, ювенильного артрита, синдрома Кавасаки, красного плоского лишая, болезни Лайма, болезни Меньера, смешанного заболевания соединительной ткани, миастении гравис, нейромитонии, опсо-миоклонального синдрома, неврита зрительного нерва, атрофического аутоиммунного тиреоидита, обыкновенной пузырчатки, пернициозной анемии, полихондрии, полимиозита и дерматомиозита, первичного билиарного цирроза, узелкового полиартериита, полиглангулярных синдромов, ревматической полимиалгии, первичной агаммаглобулинемии, феномена Рейно, синдрома Рейтера, ревматической лихорадки, саркоидоза, склеродермии, синдрома Шегрена, синдрома мышечной скованности, синдрома Такаясу, височного артериита, язвенного колита, увеита, васкулита, витилиго, вульводинии и гранулематоза Вегенера.

104. Фармацевтическая композиция, содержащая ADC по любому из пп. 46-76 и фармацевтический приемлемый носитель.

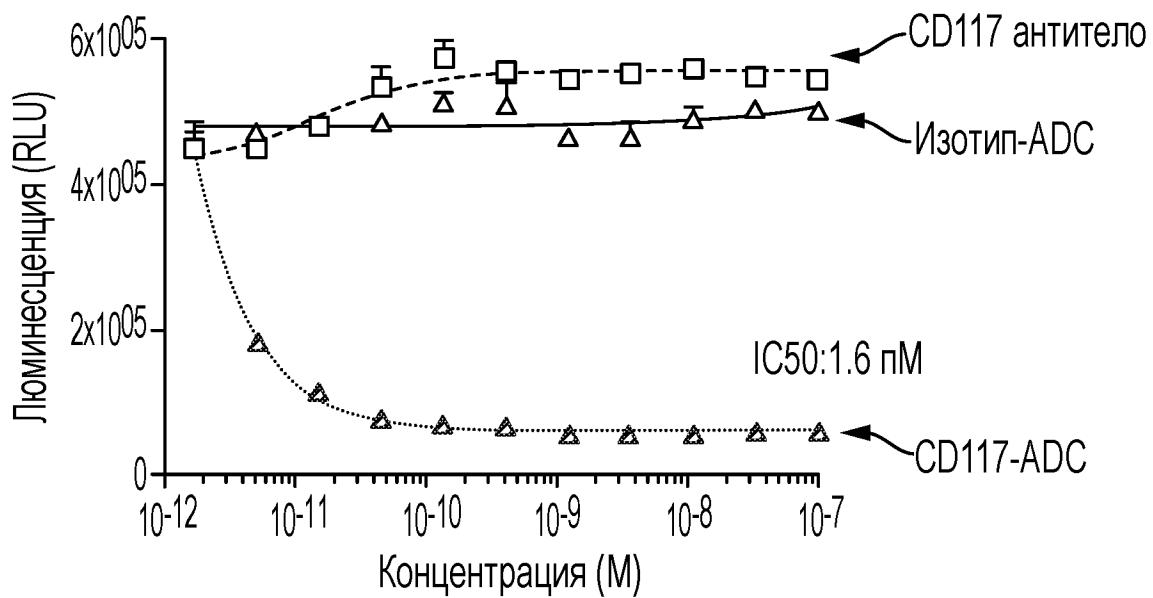
ФИГ.1



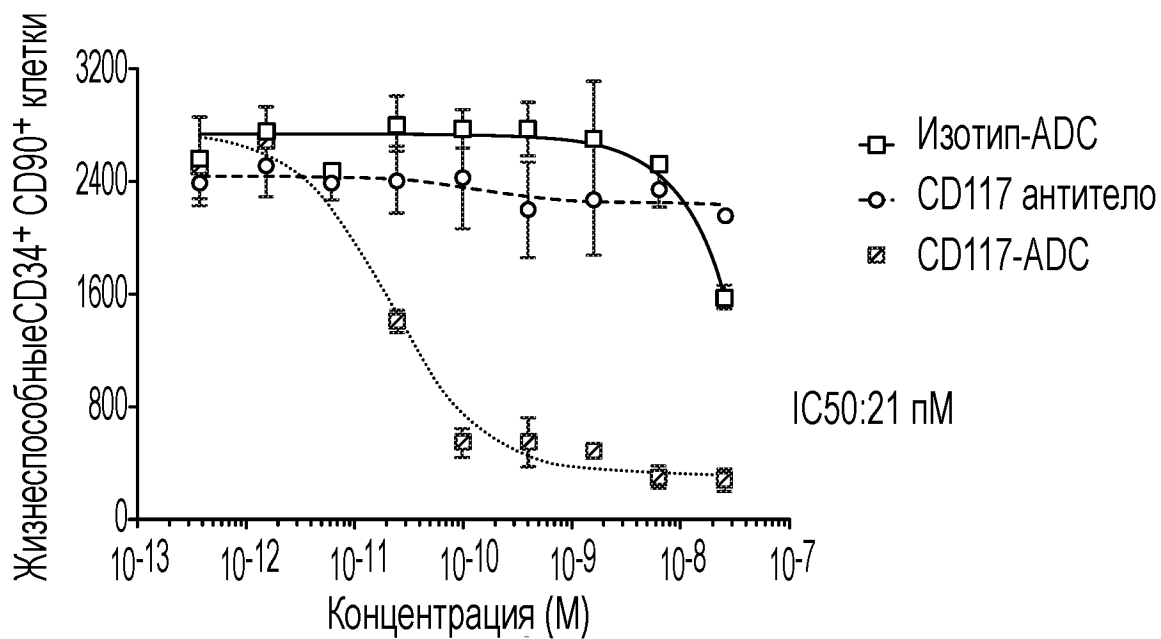
ФИГ.1 ПРОДОЛЖЕНИЕ



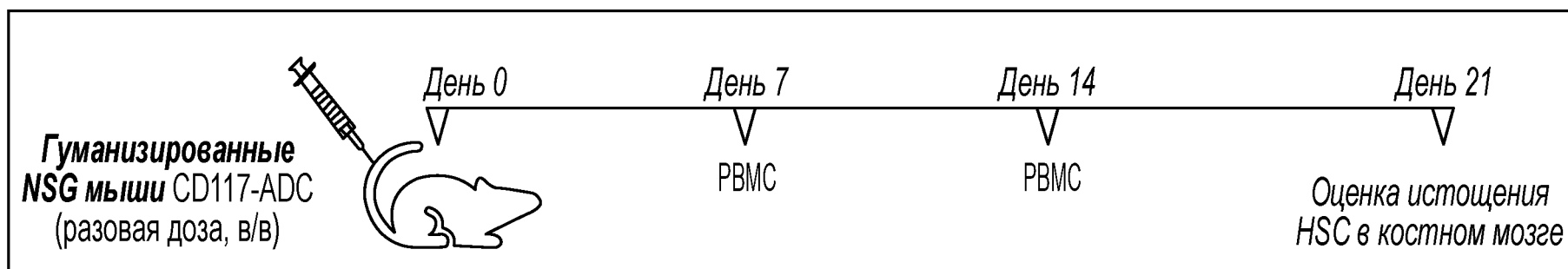
ФИГ.2А



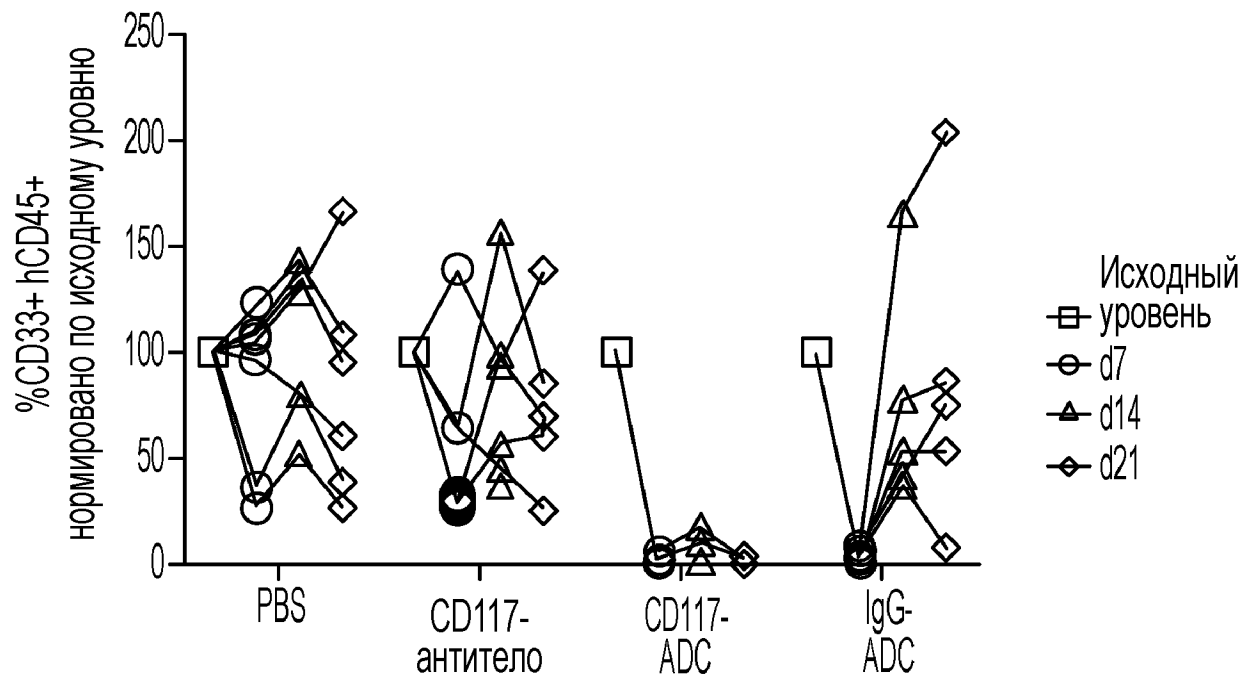
ФИГ.2В



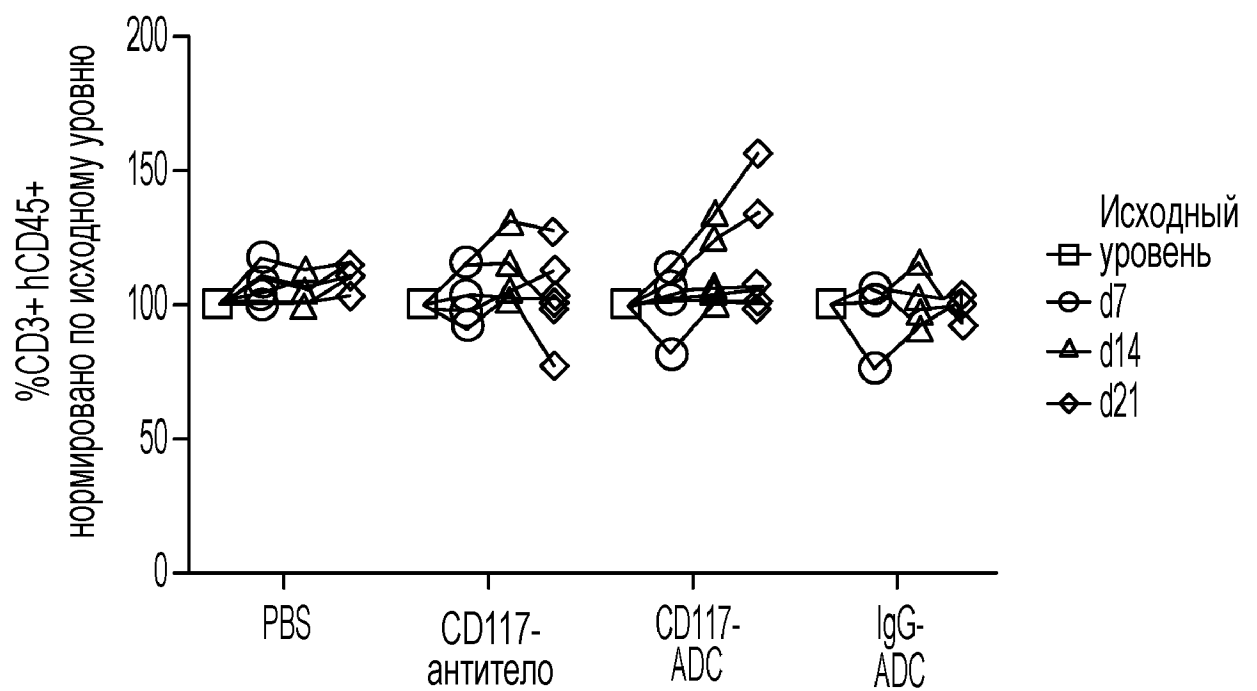
ФИГ.3А



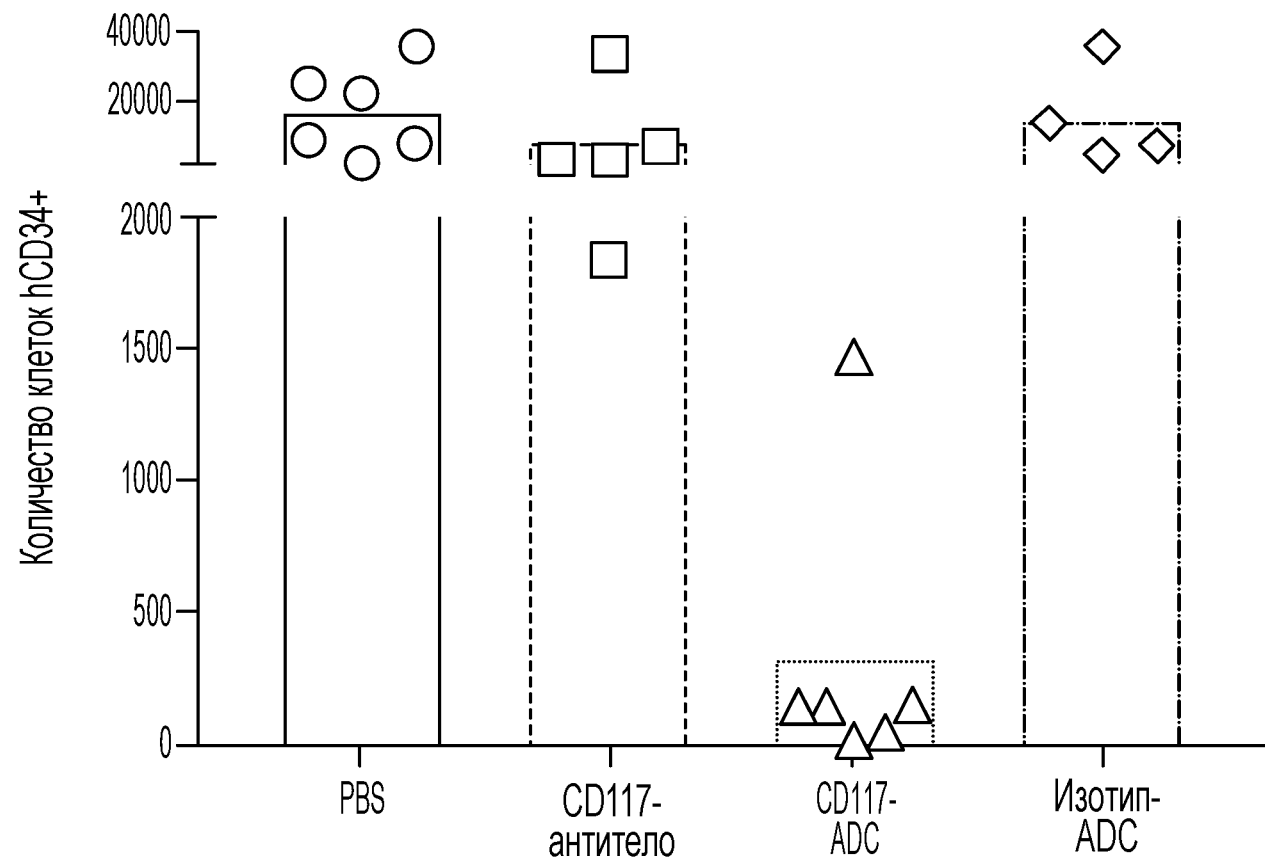
ФИГ.3В



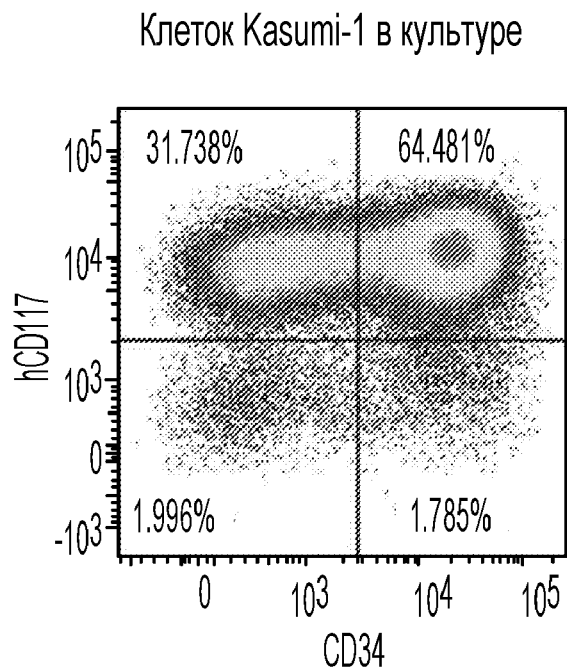
ФИГ.3С



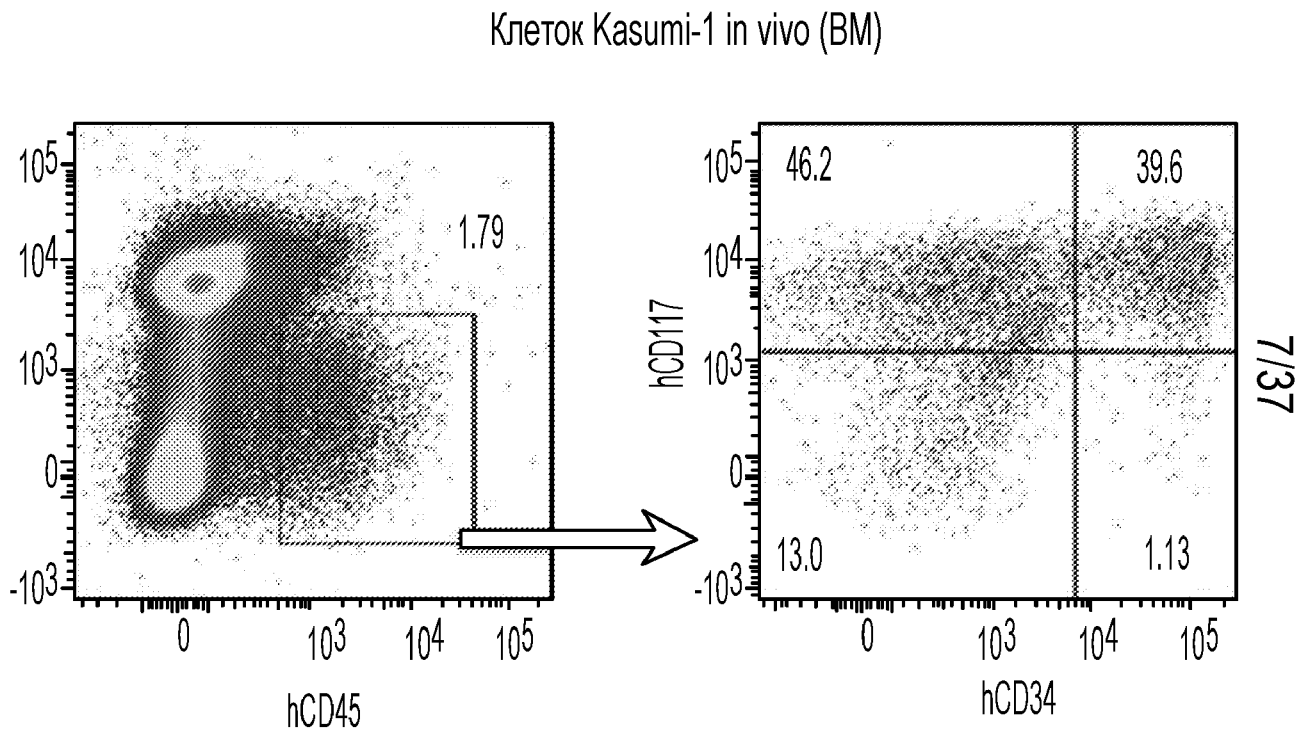
ФИГ.3D



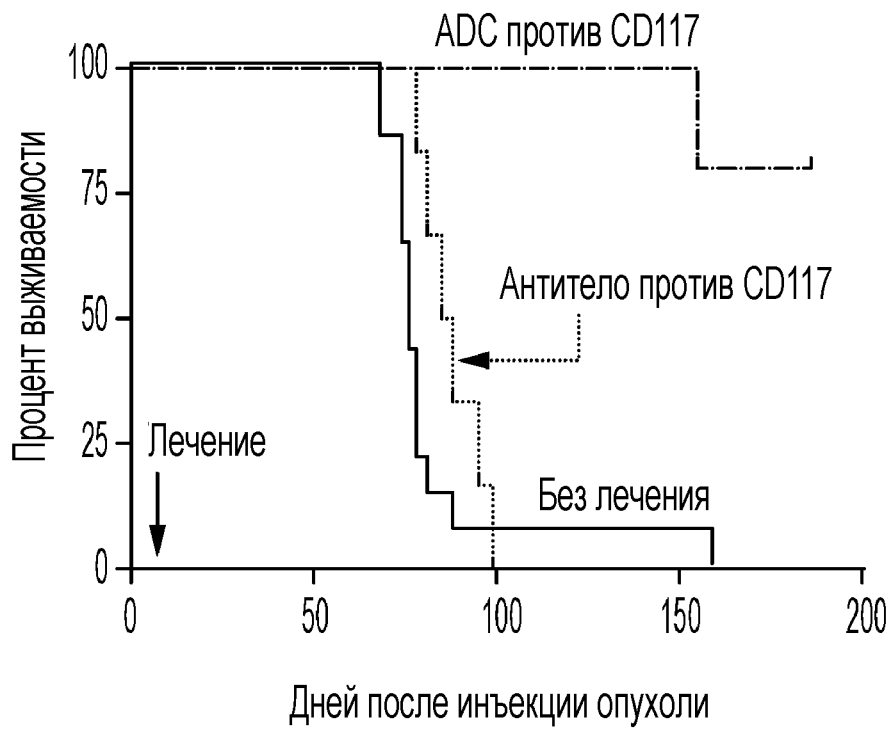
ФИГ.4А



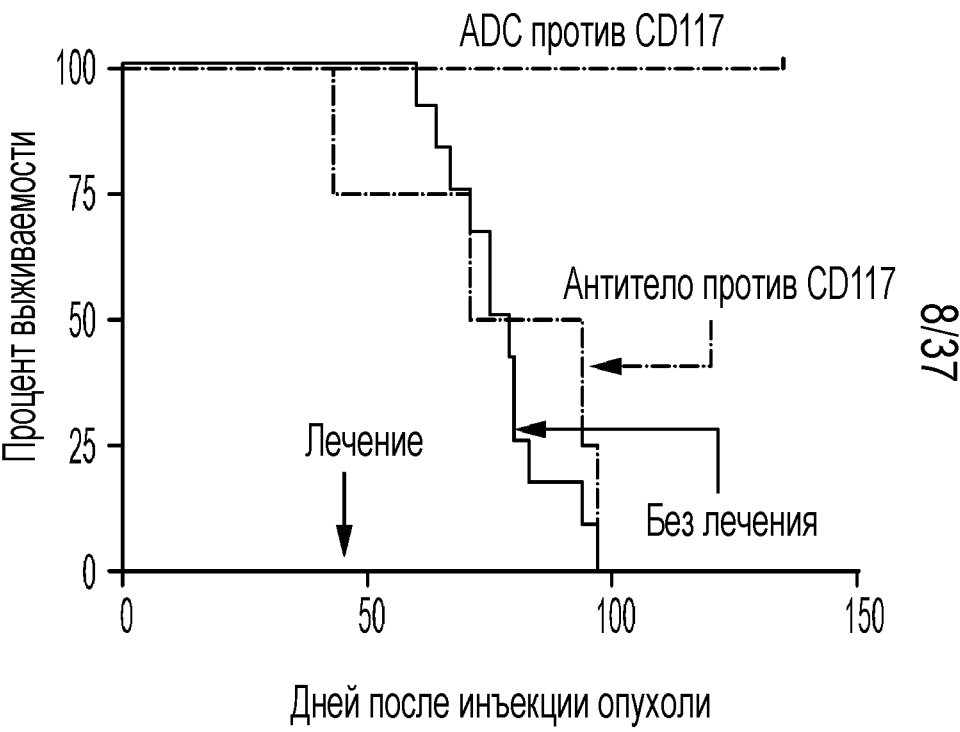
ФИГ.4В



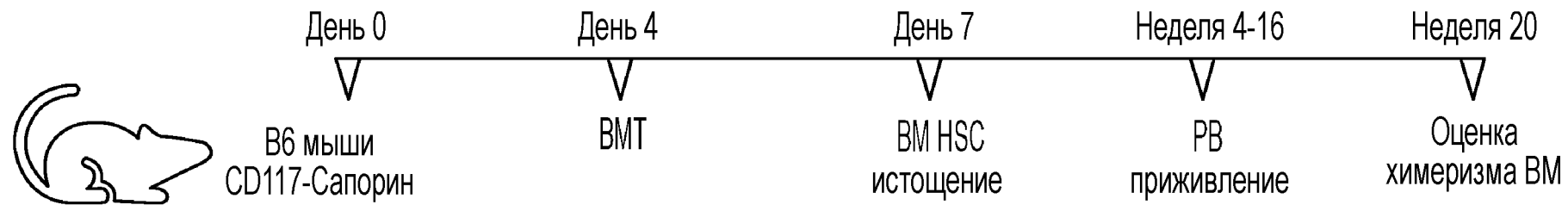
ФИГ.4С



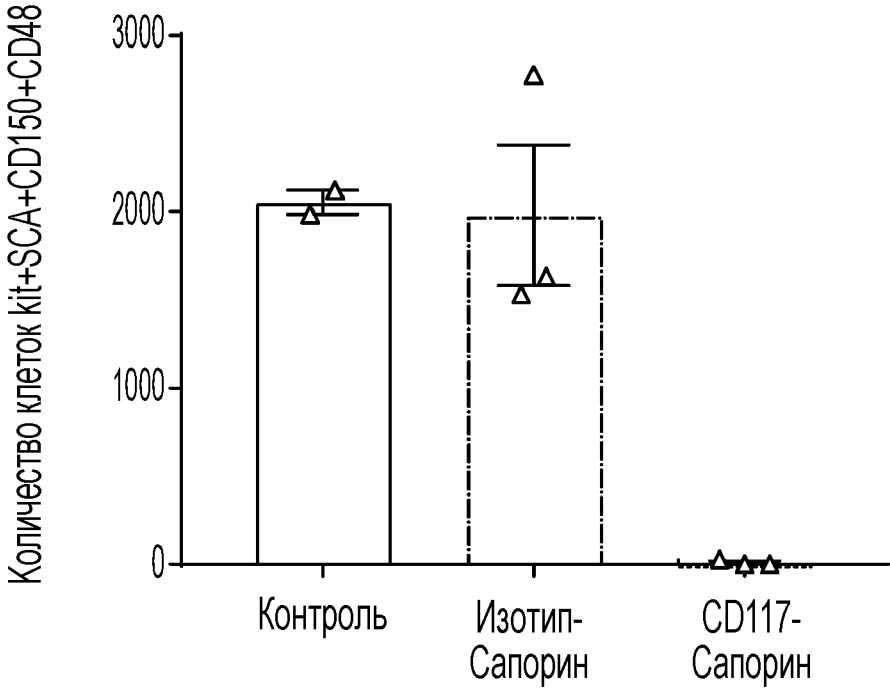
ФИГ.4D



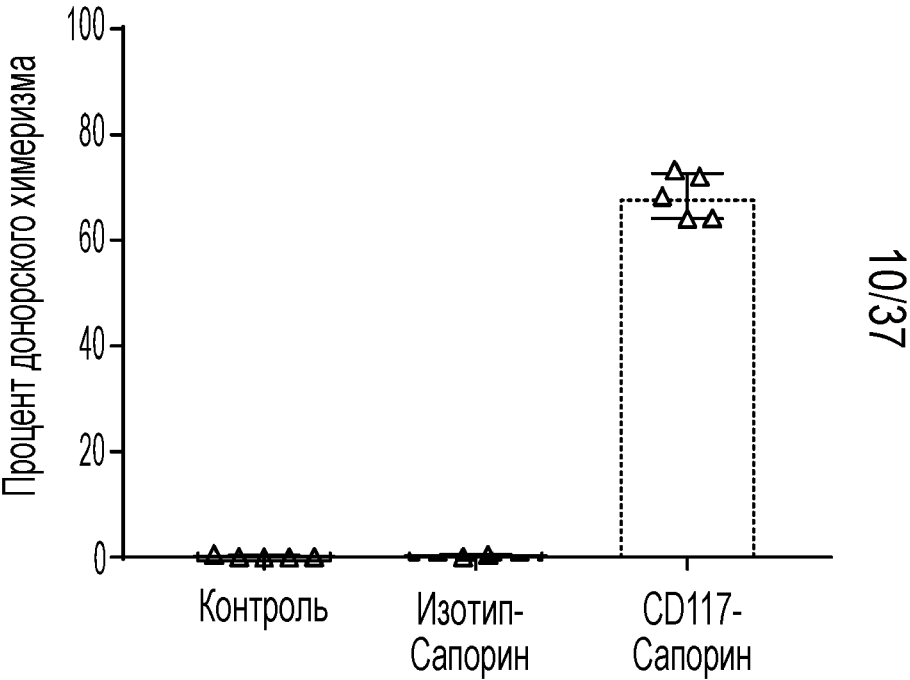
ФИГ.5А



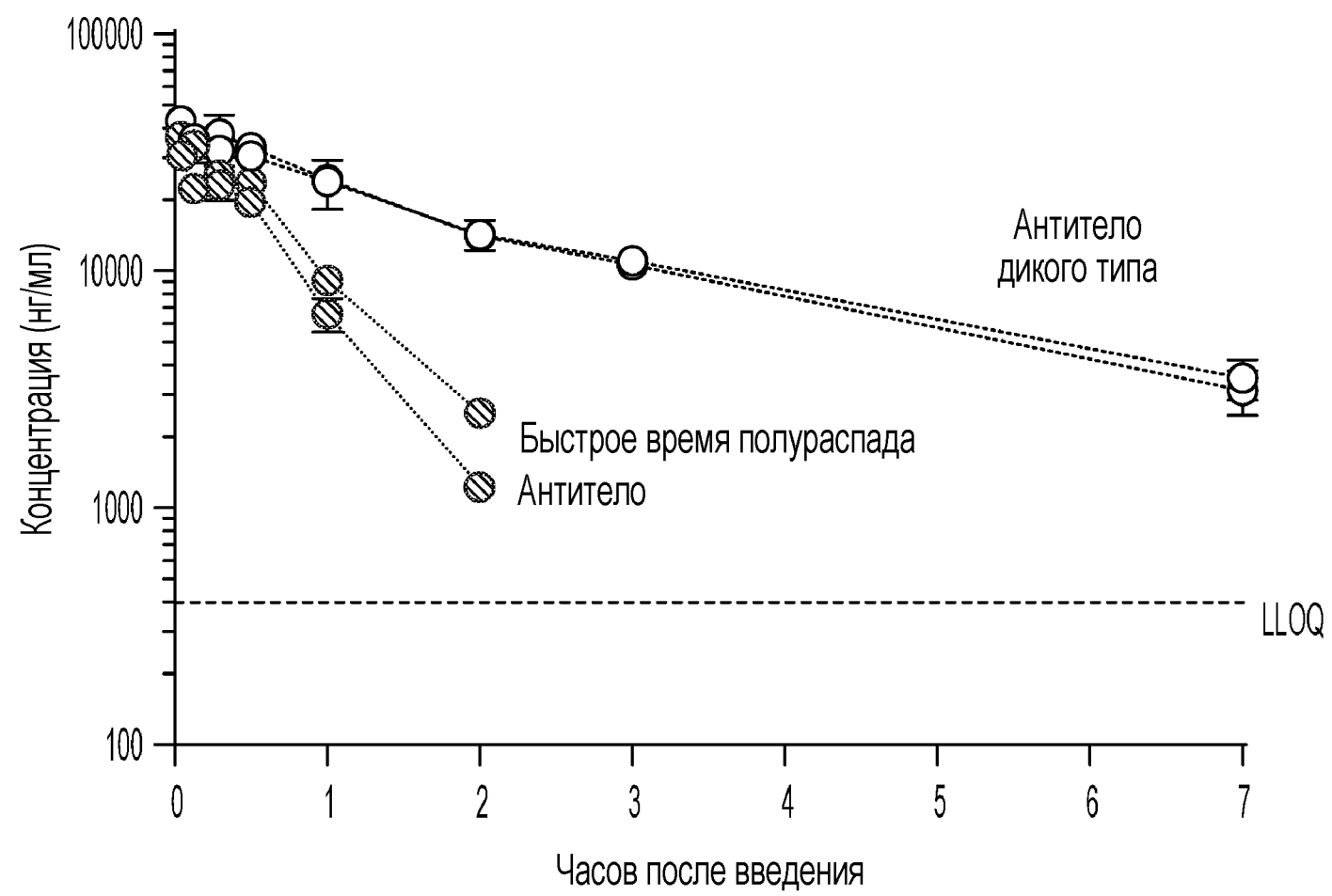
ФИГ.5В



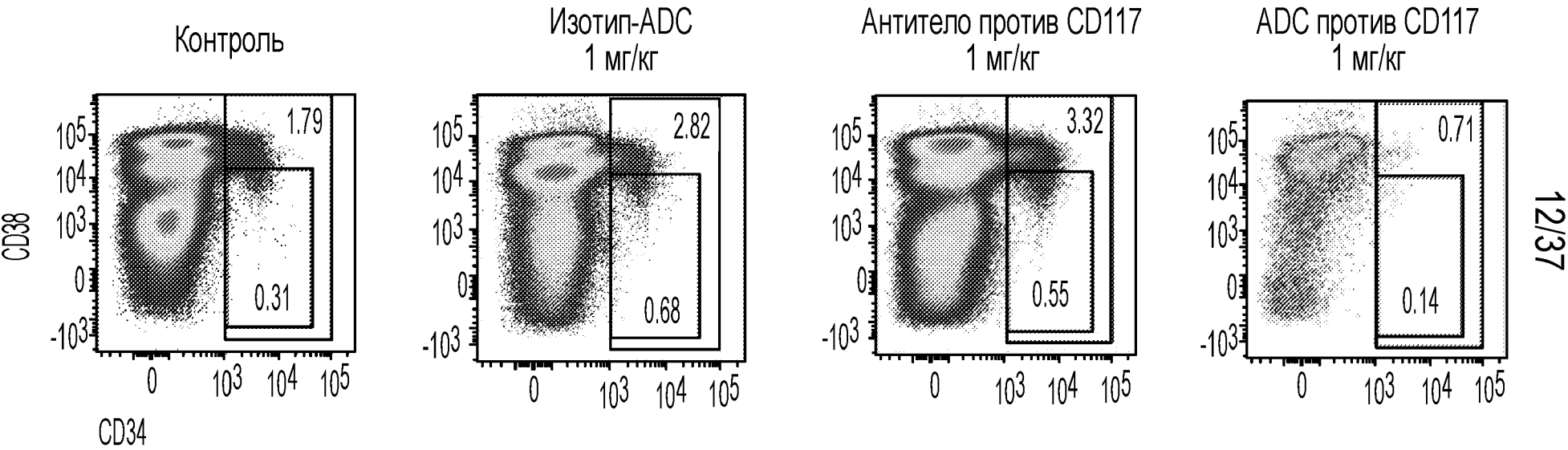
ФИГ.5С



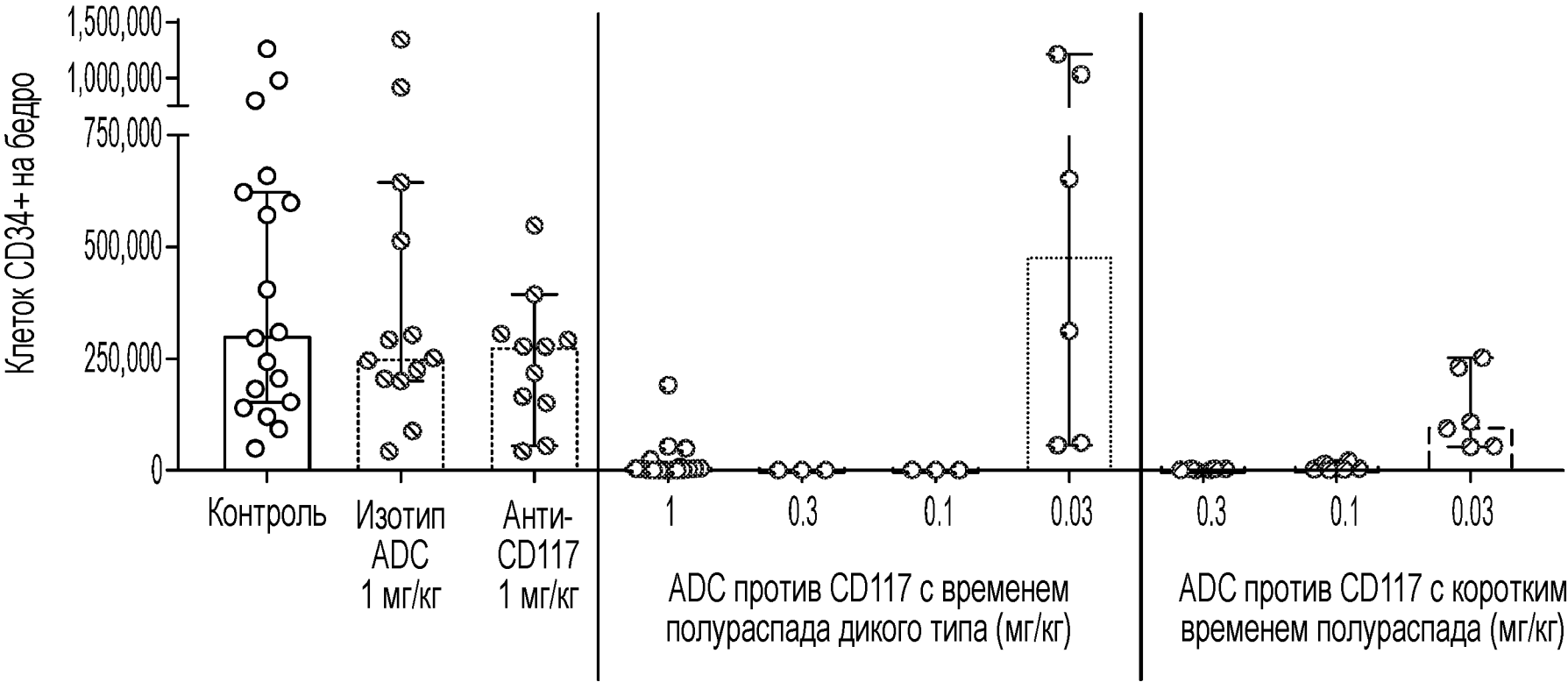
ФИГ.6



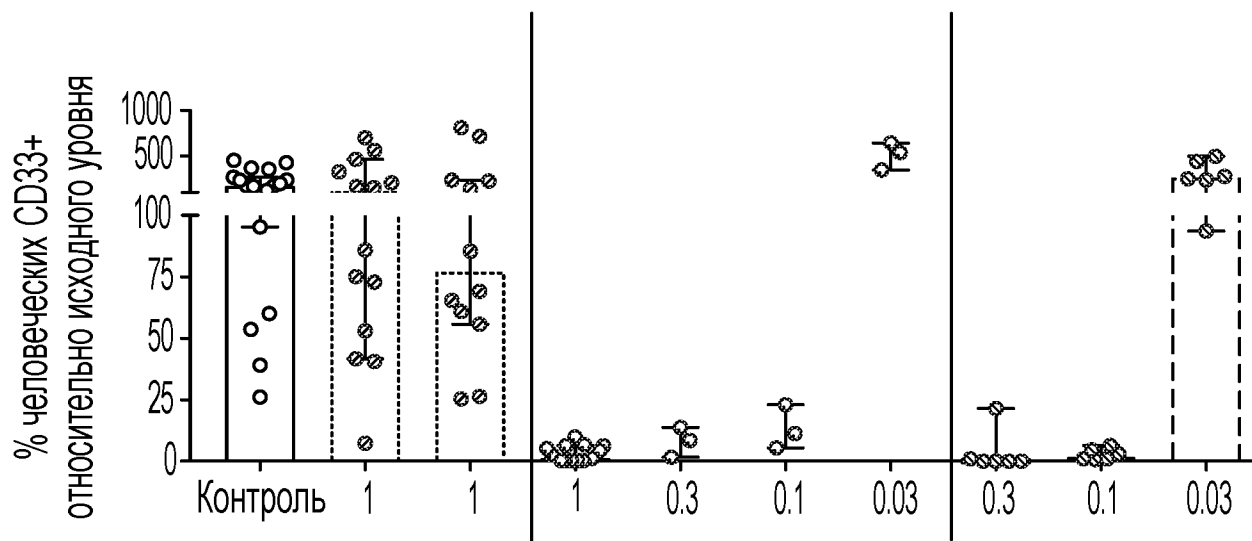
ФИГ.7А



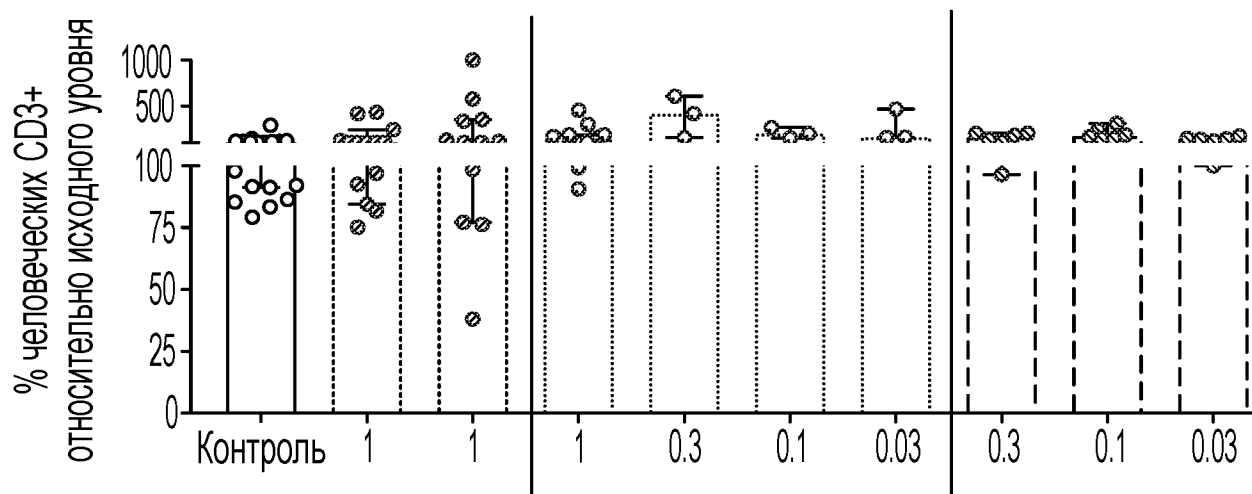
ФИГ.7В



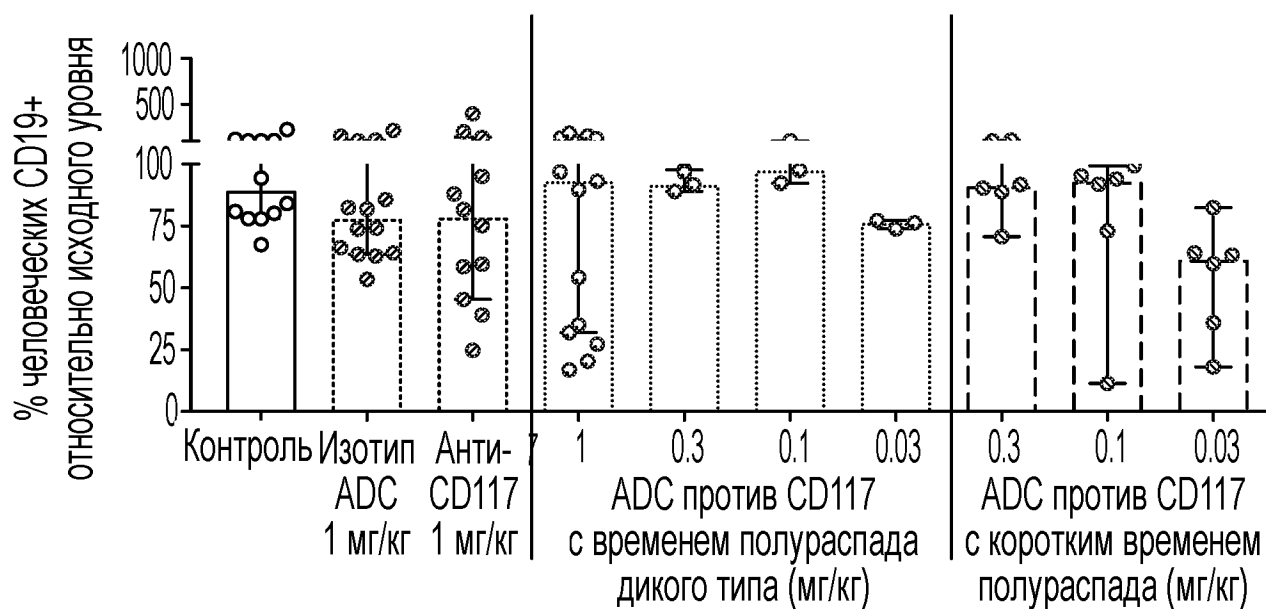
ФИГ.8А



ФИГ.8В

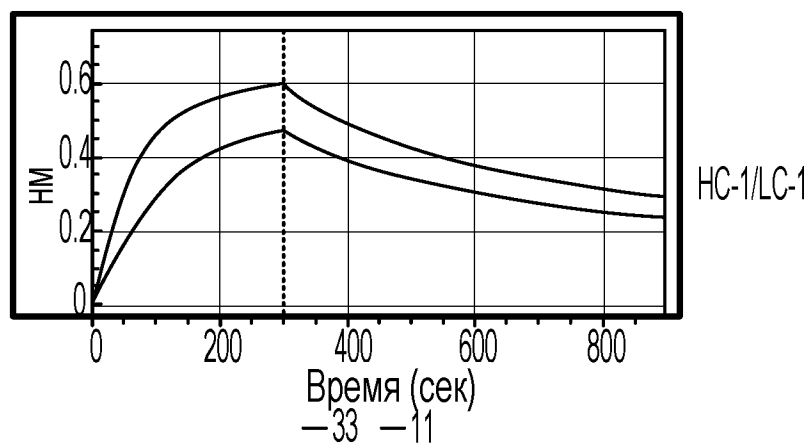


ФИГ.8С

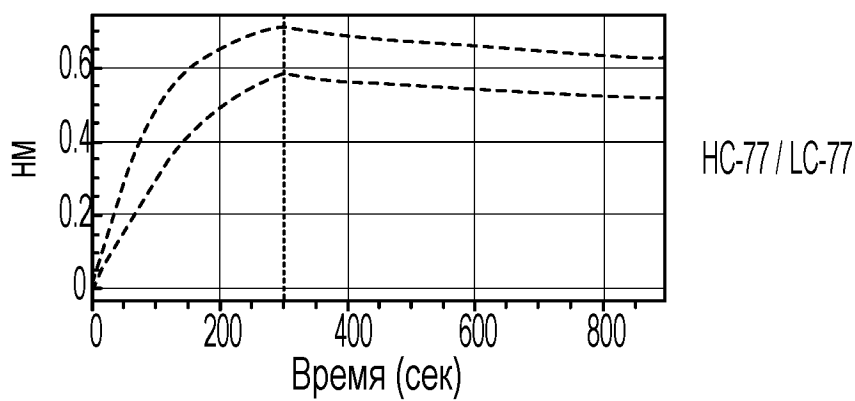


ФИГ.9А

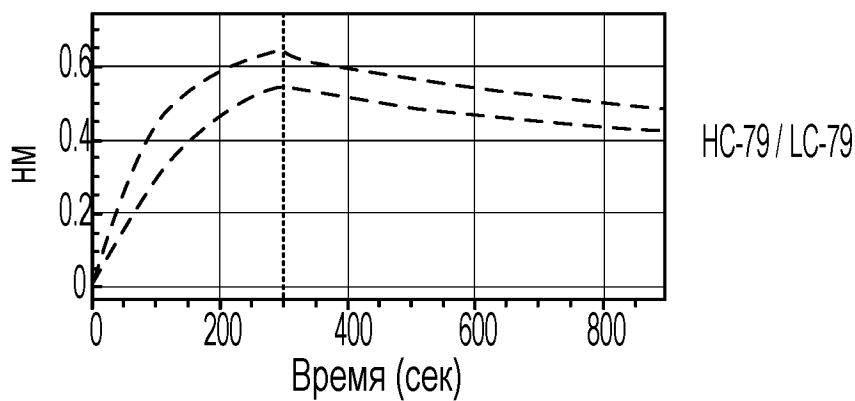
15/37



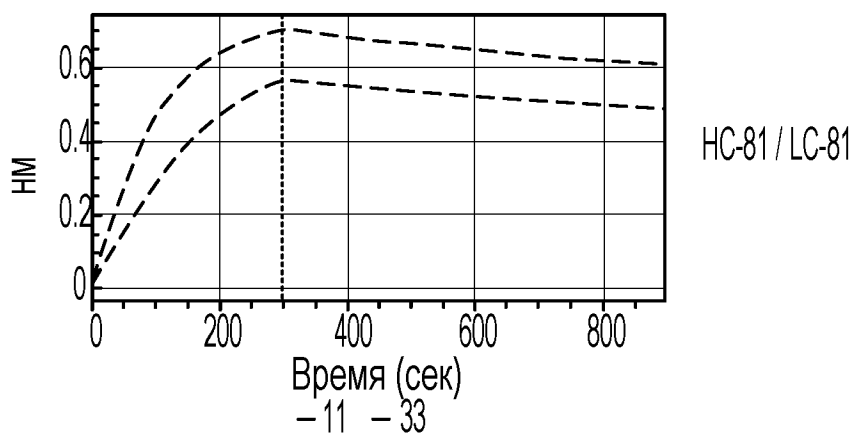
ФИГ.9В



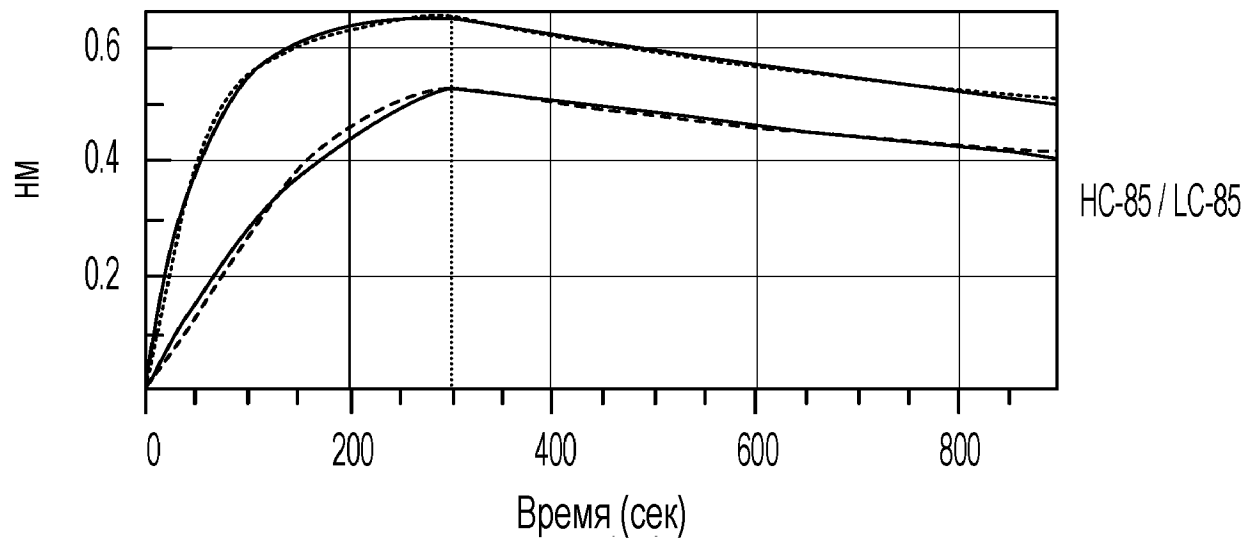
ФИГ.9С



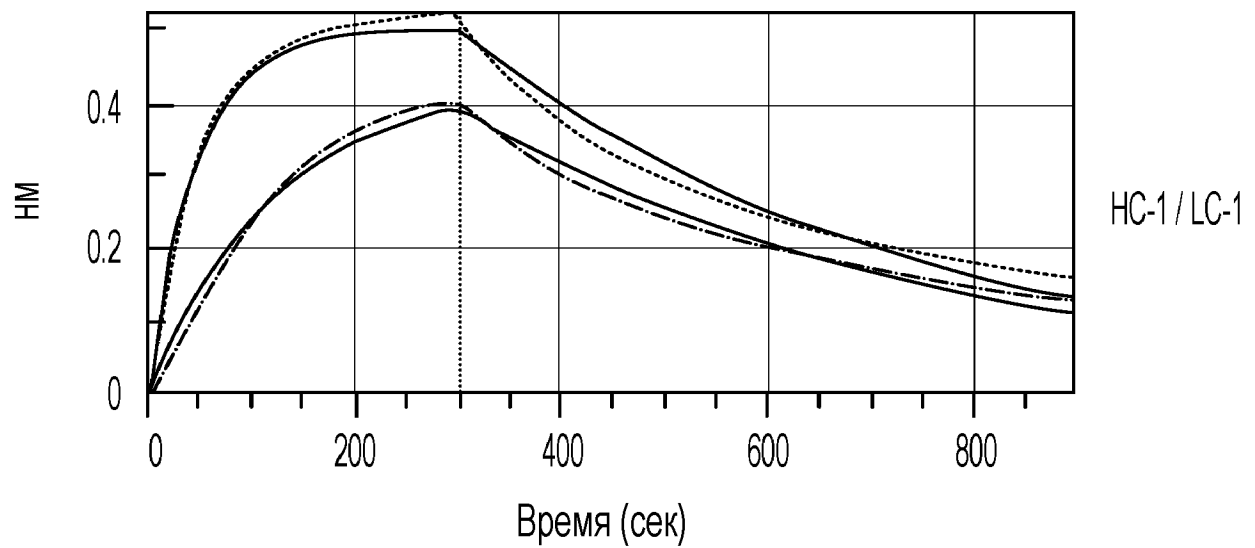
ФИГ.9D



ФИГ.10А



ФИГ.10В



ФИГ.11А

Домены VH:

CK6 QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDSTRYSPSFQGVQVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
Ab85 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMAI IINPRDSDTRYRPSFQGVQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS

ФИГ.11В

Домены VL:

CK6 AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
Ab85 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCCRSSQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPLTFGGGTKVEIK

ФИГ.11С

Домены VH:

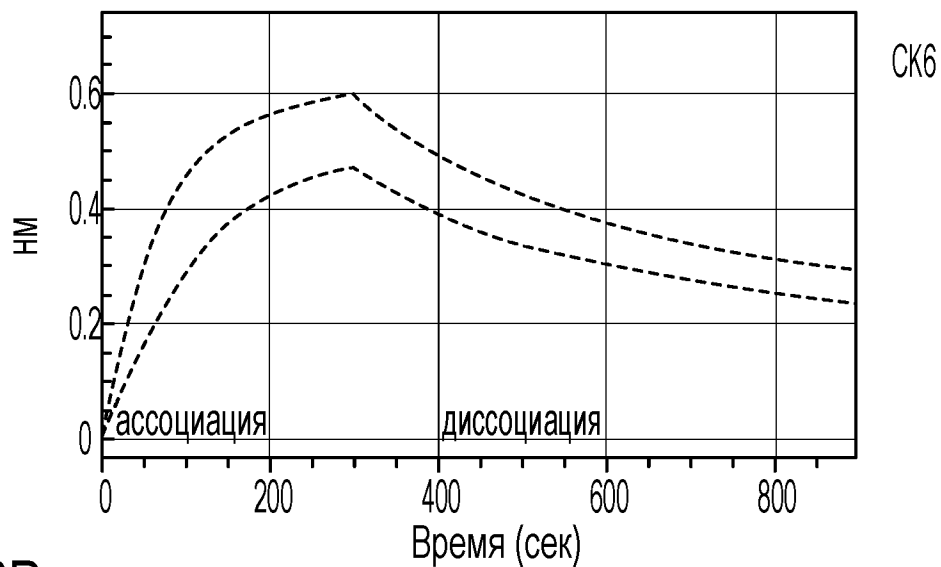
CK6 QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDSTRYSPSFQGVQVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS
Ab249 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDSTRYSPSFQGVQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGTMTVTVSS

ФИГ.11D

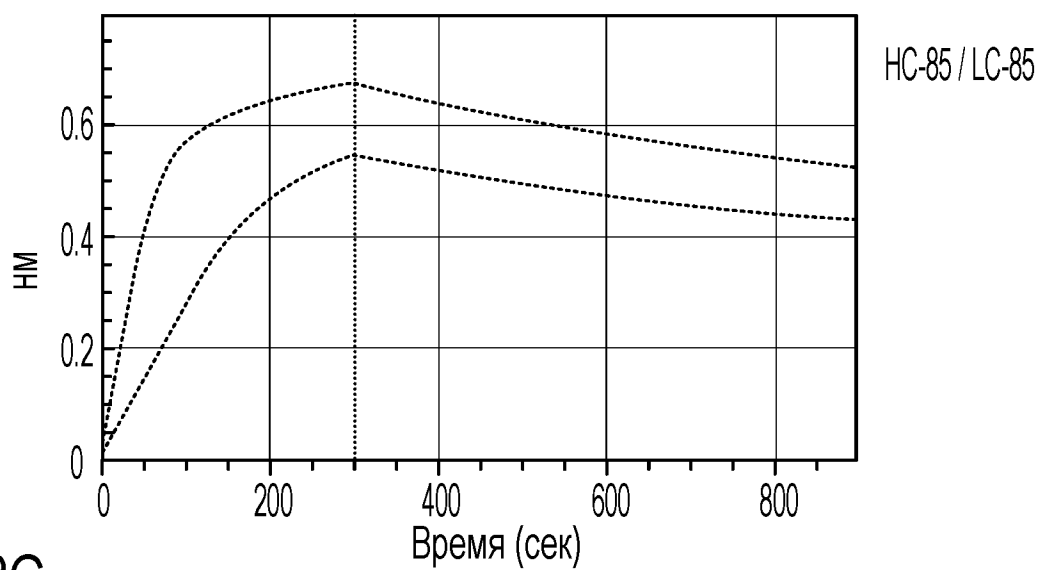
Домены VL:

CK6 AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
Ab249 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQNLNGYPLTFGQGTREIK

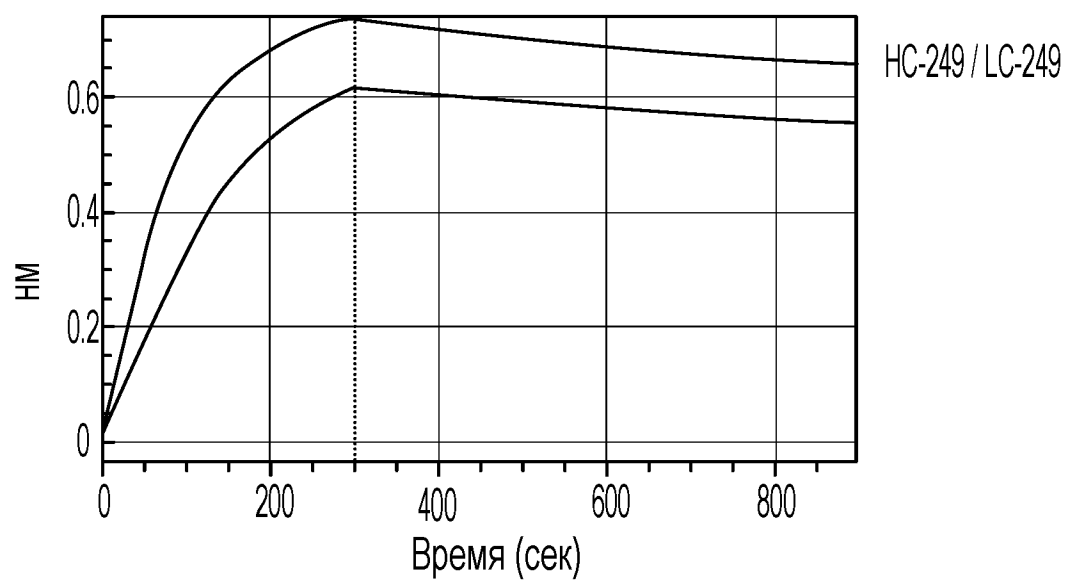
ФИГ.12А



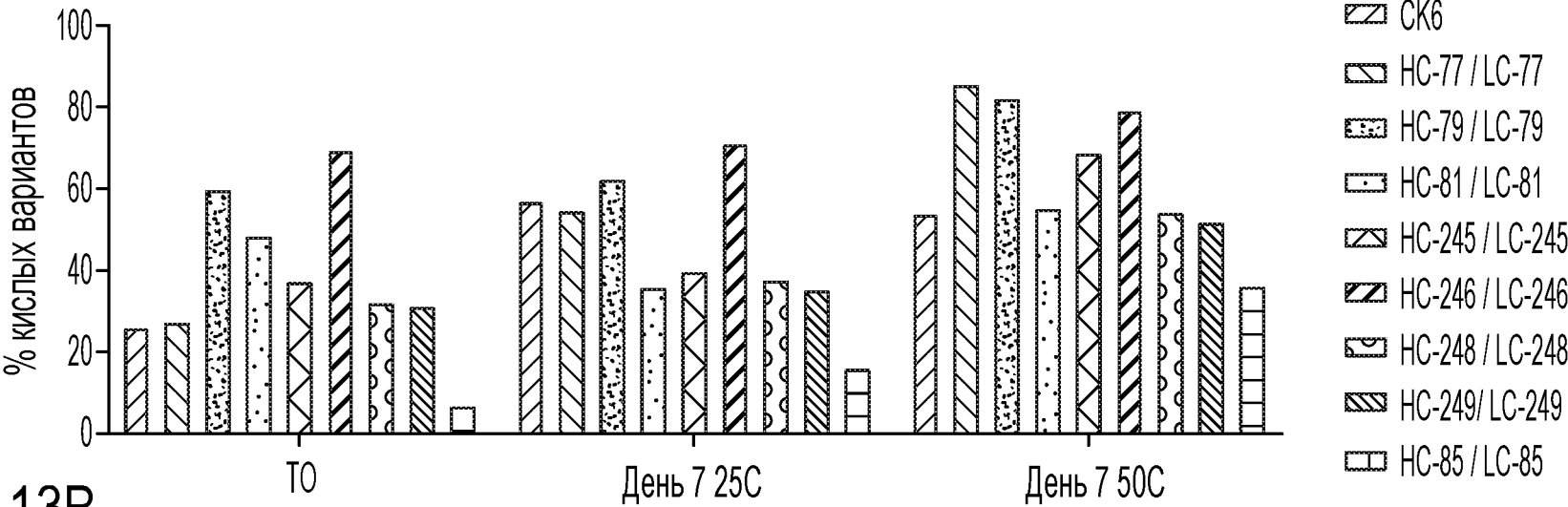
ФИГ.12В



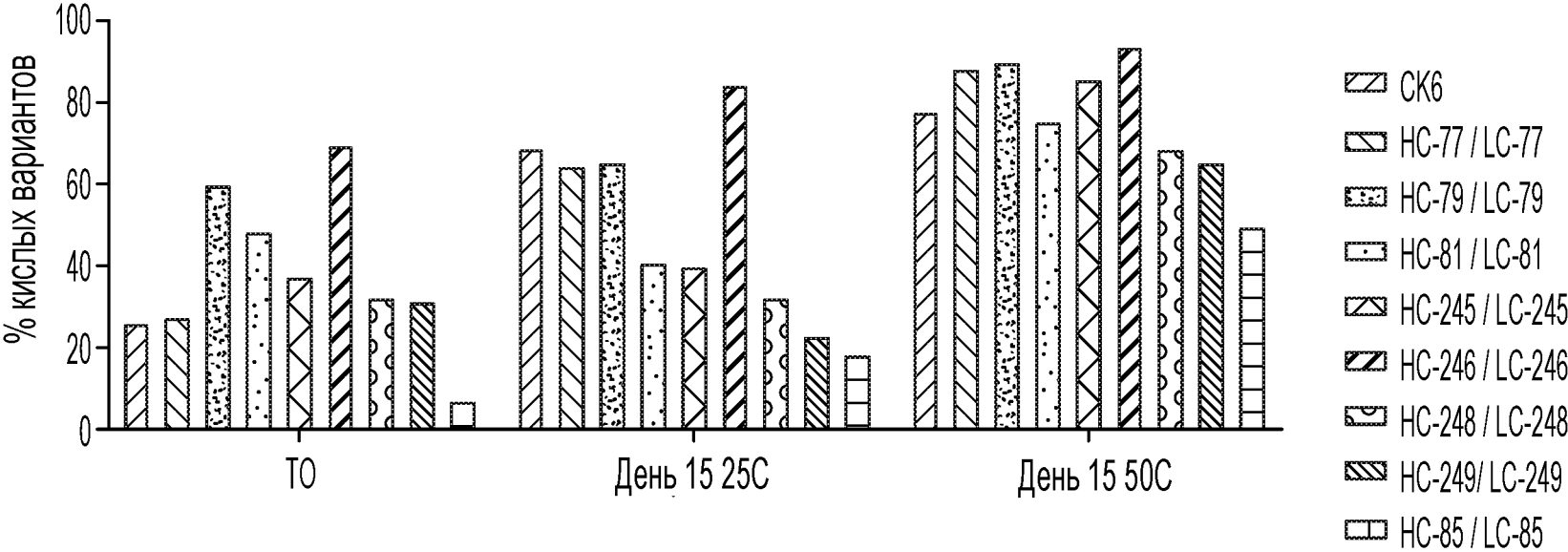
ФИГ.12С



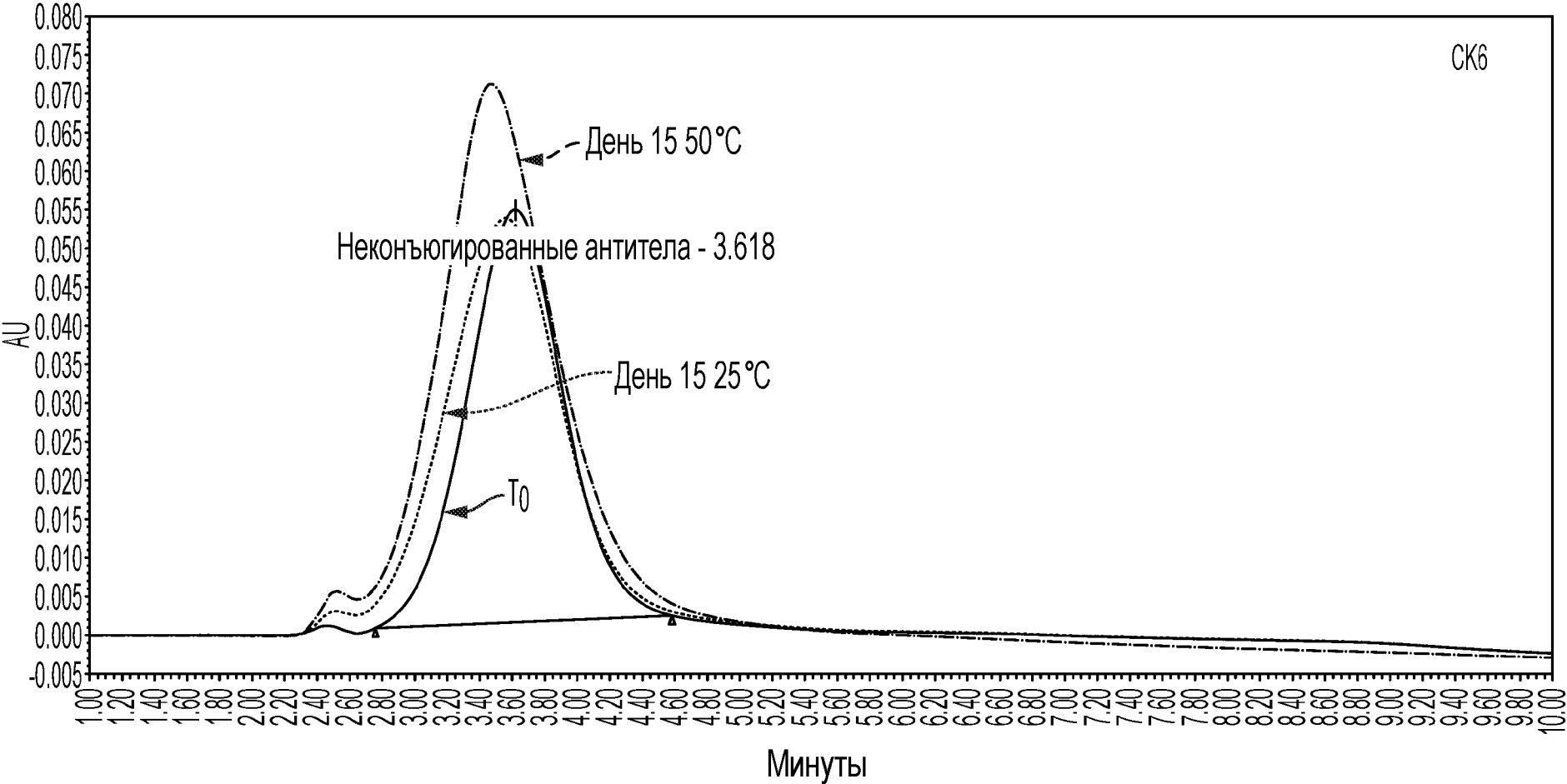
ФИГ.13А



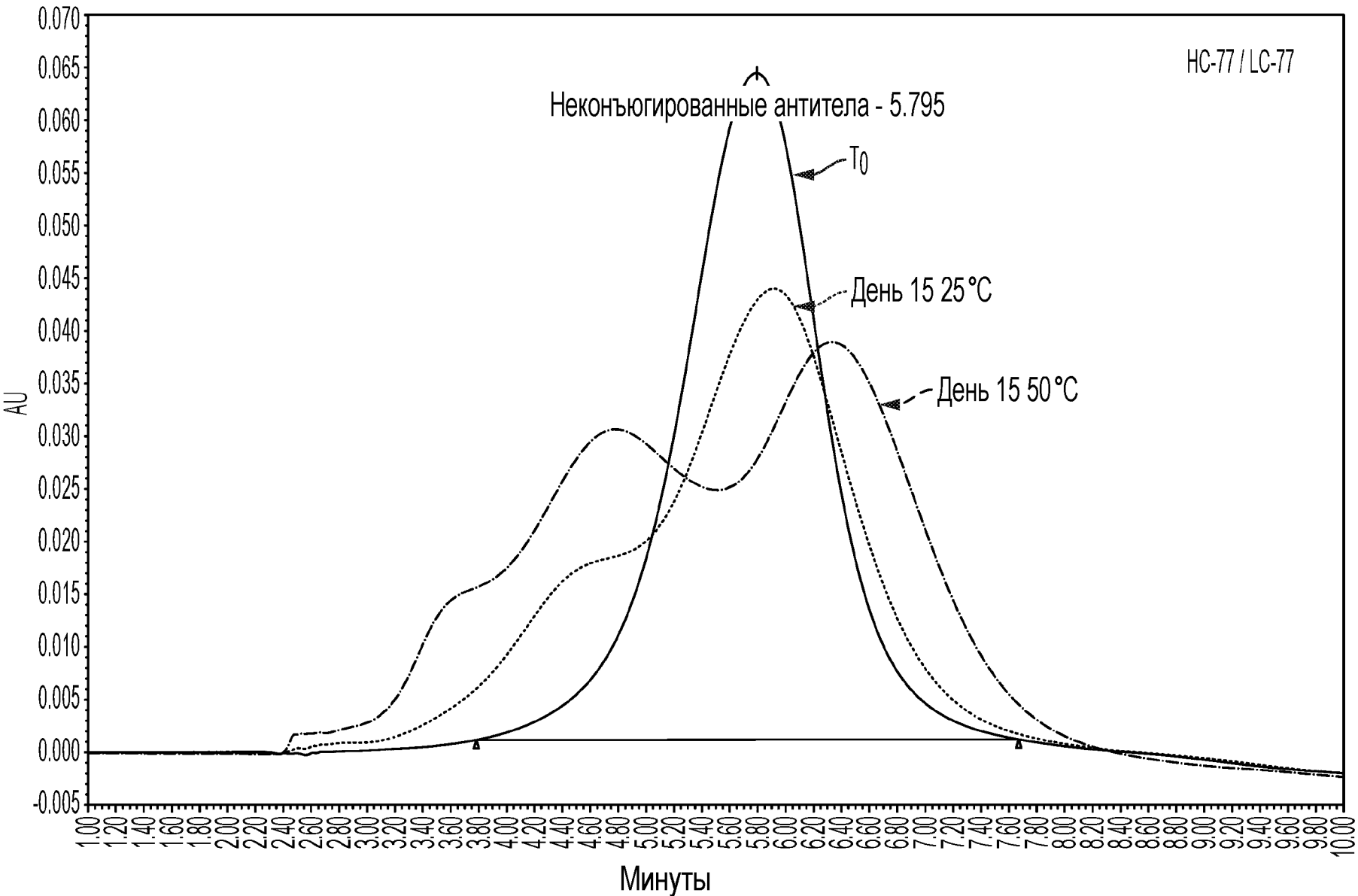
ФИГ.13В



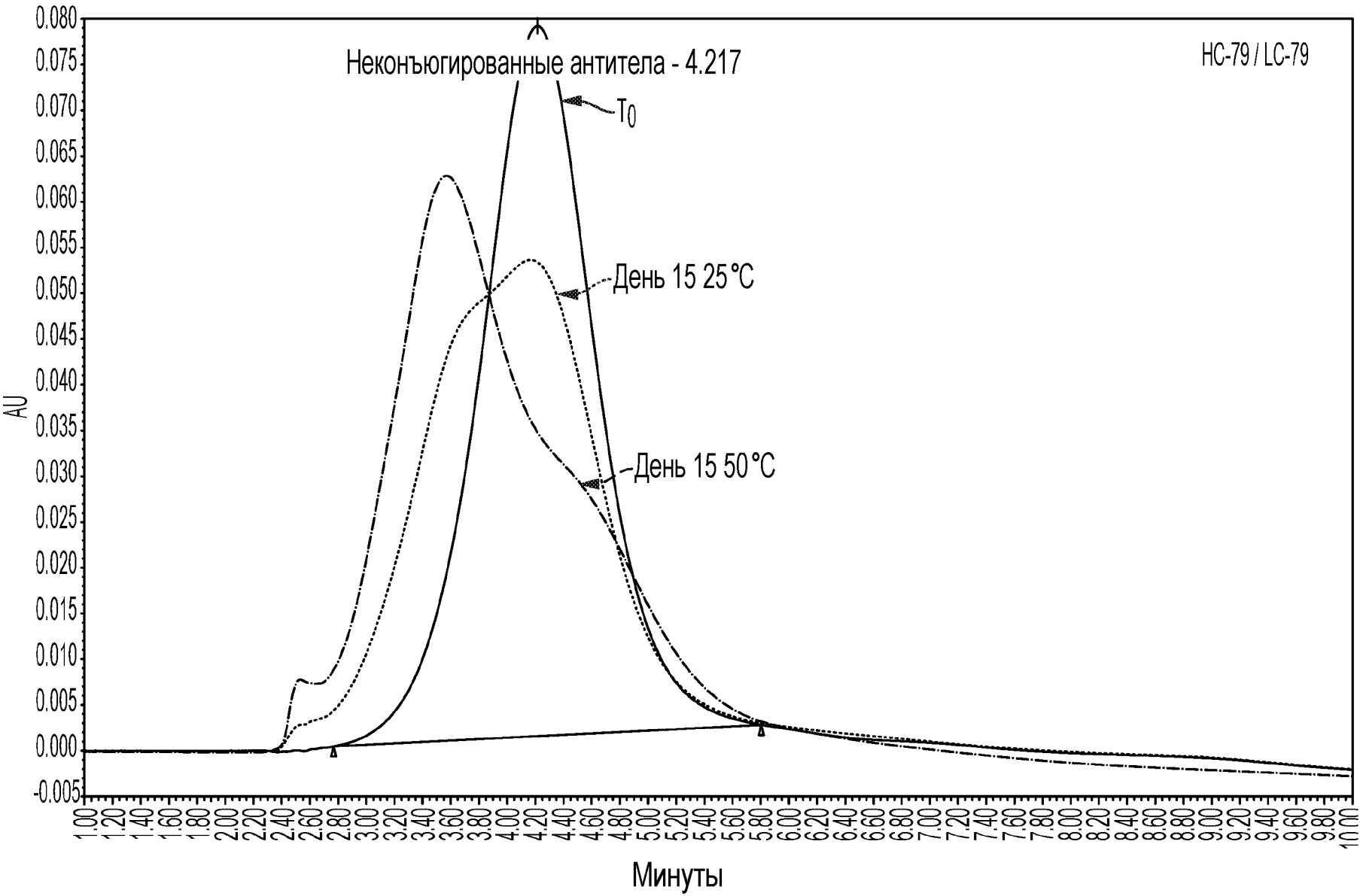
ФИГ.14А



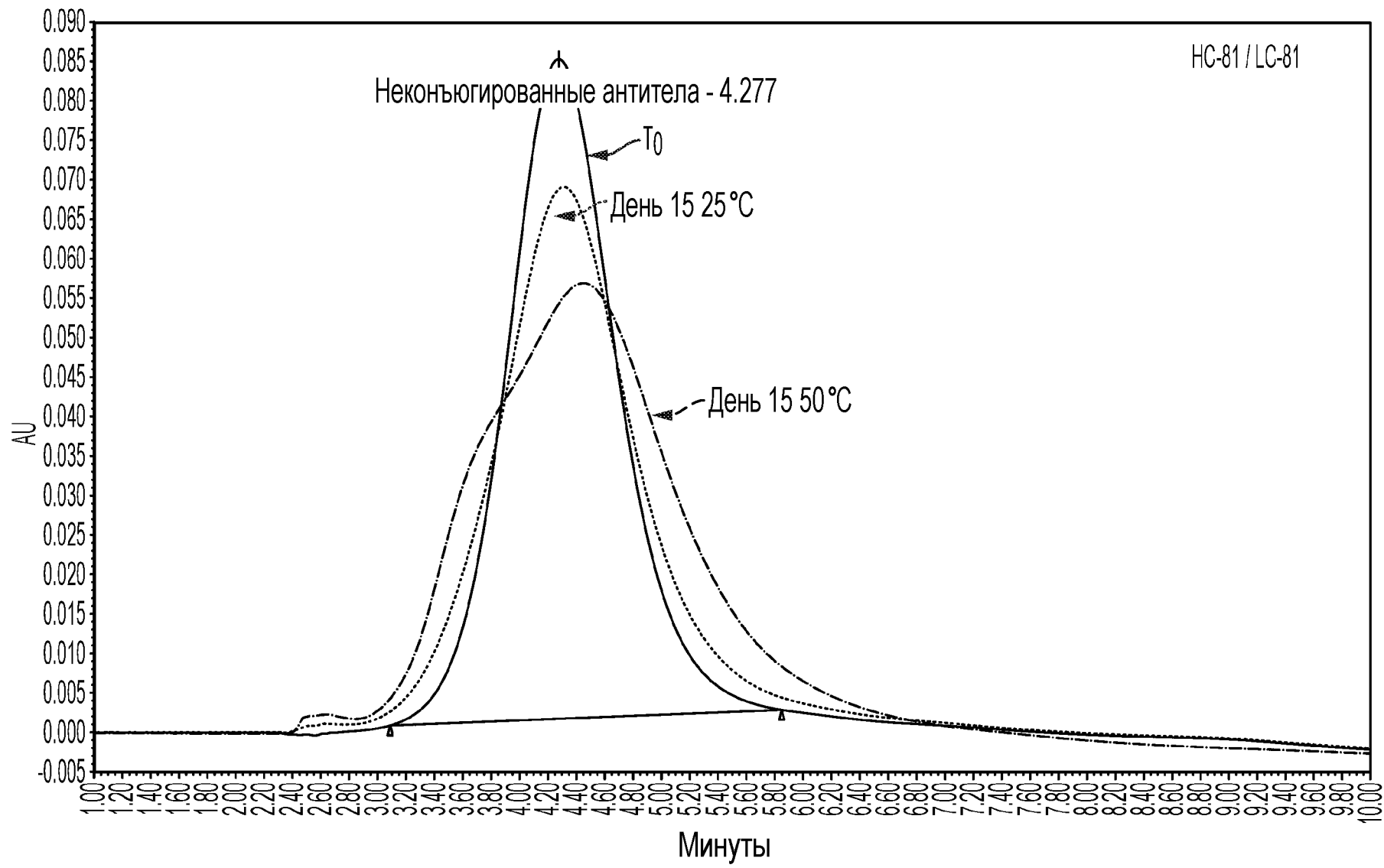
ФИГ.14В



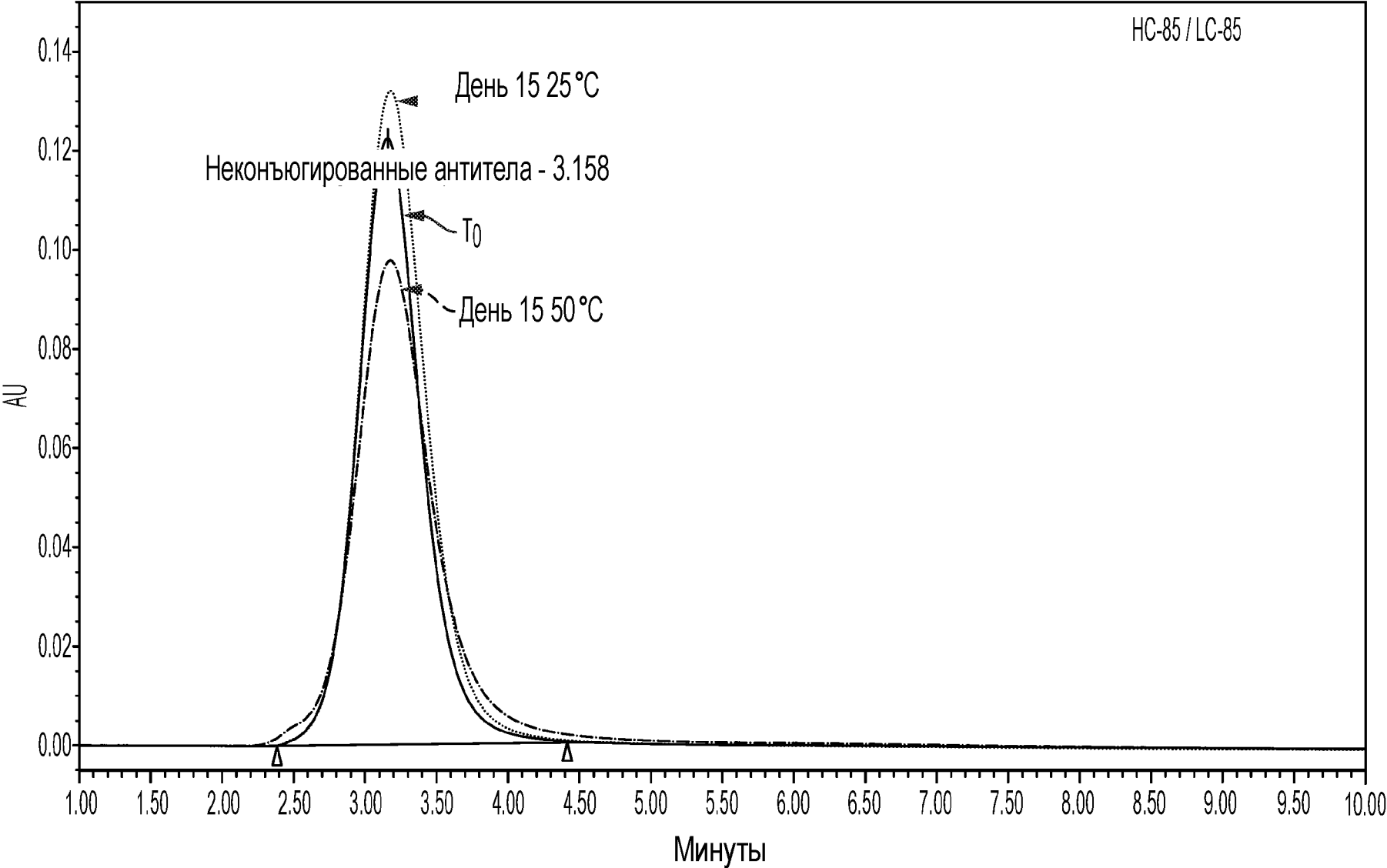
ФИГ.14С



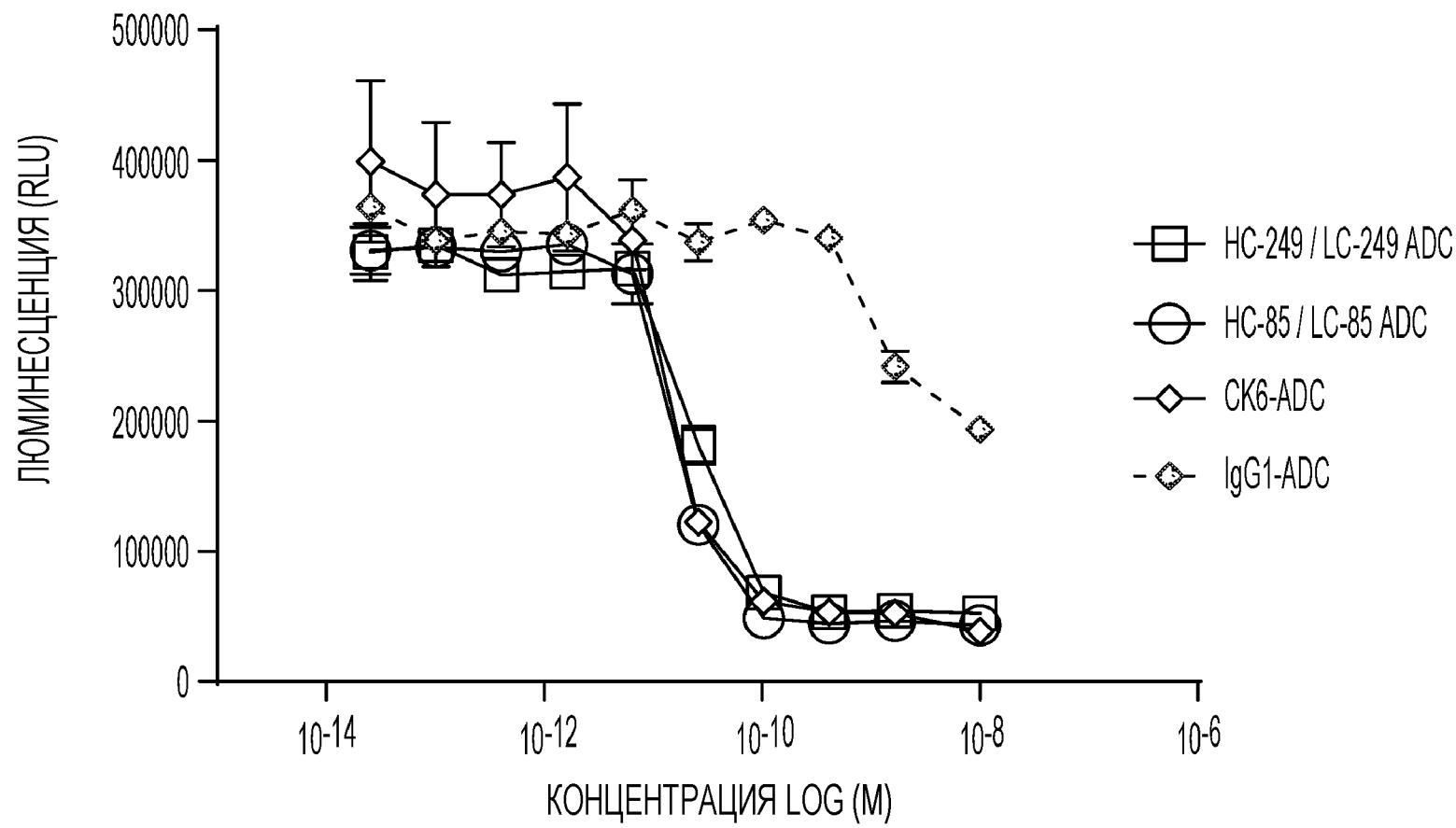
ФИГ.14D



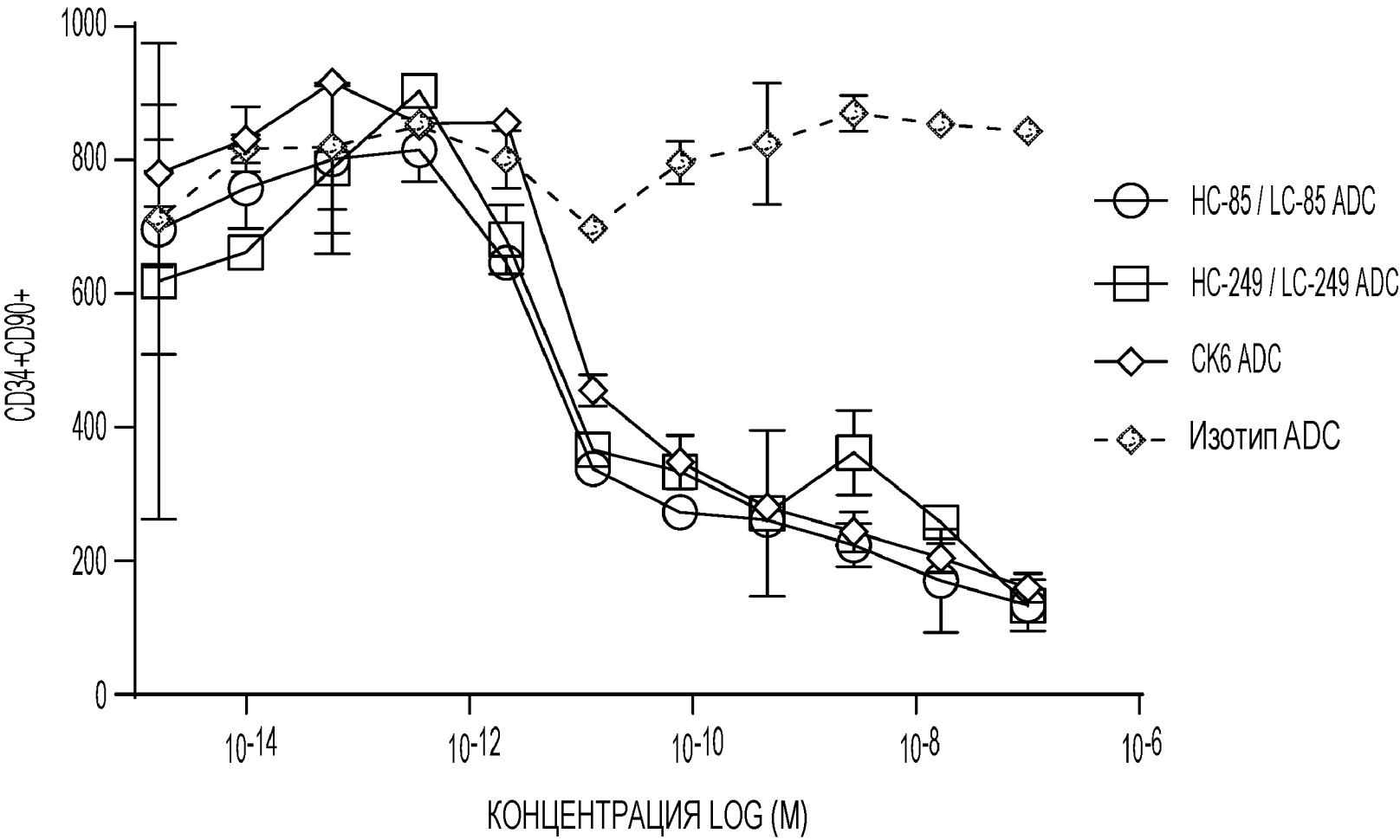
ФИГ.14Е



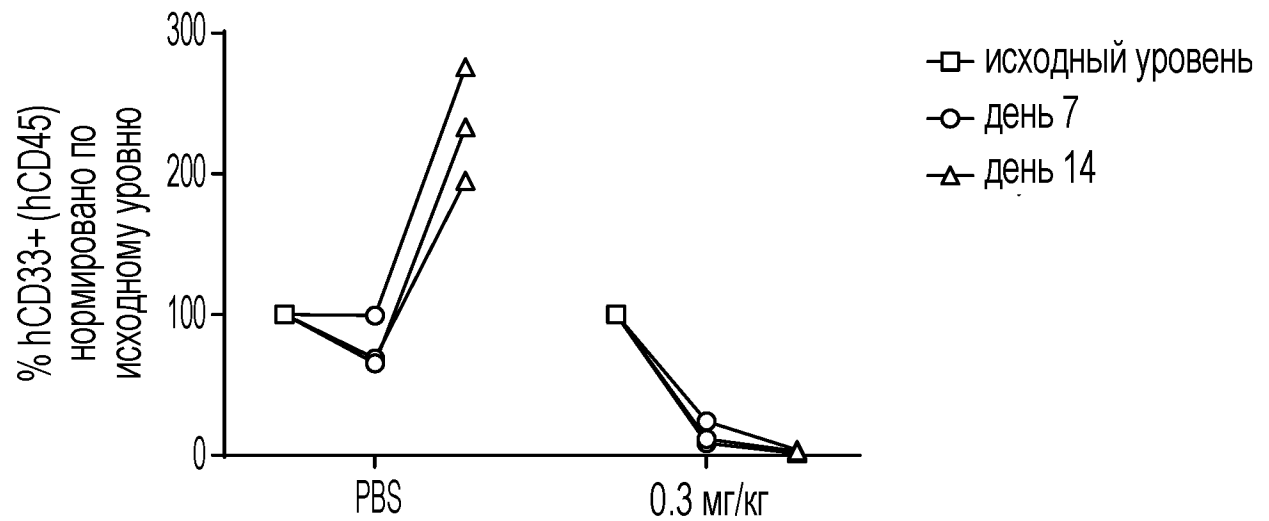
ФИГ.15



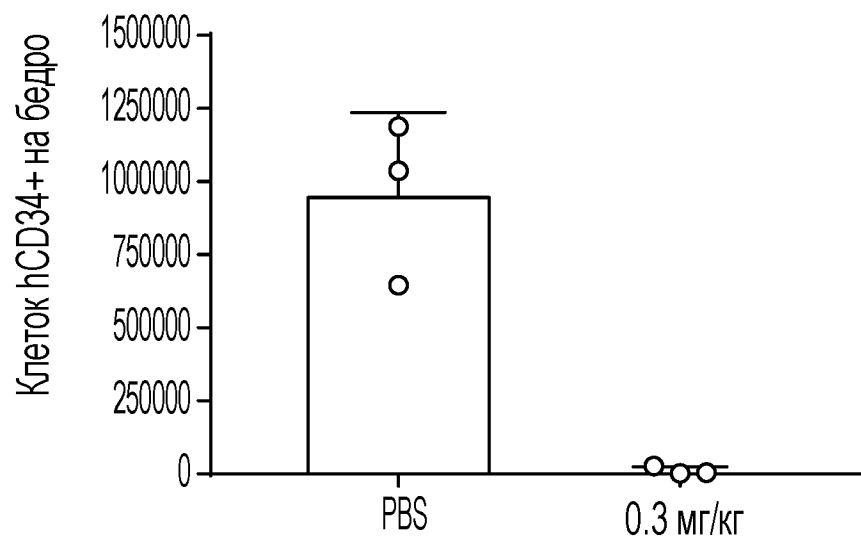
ФИГ.16



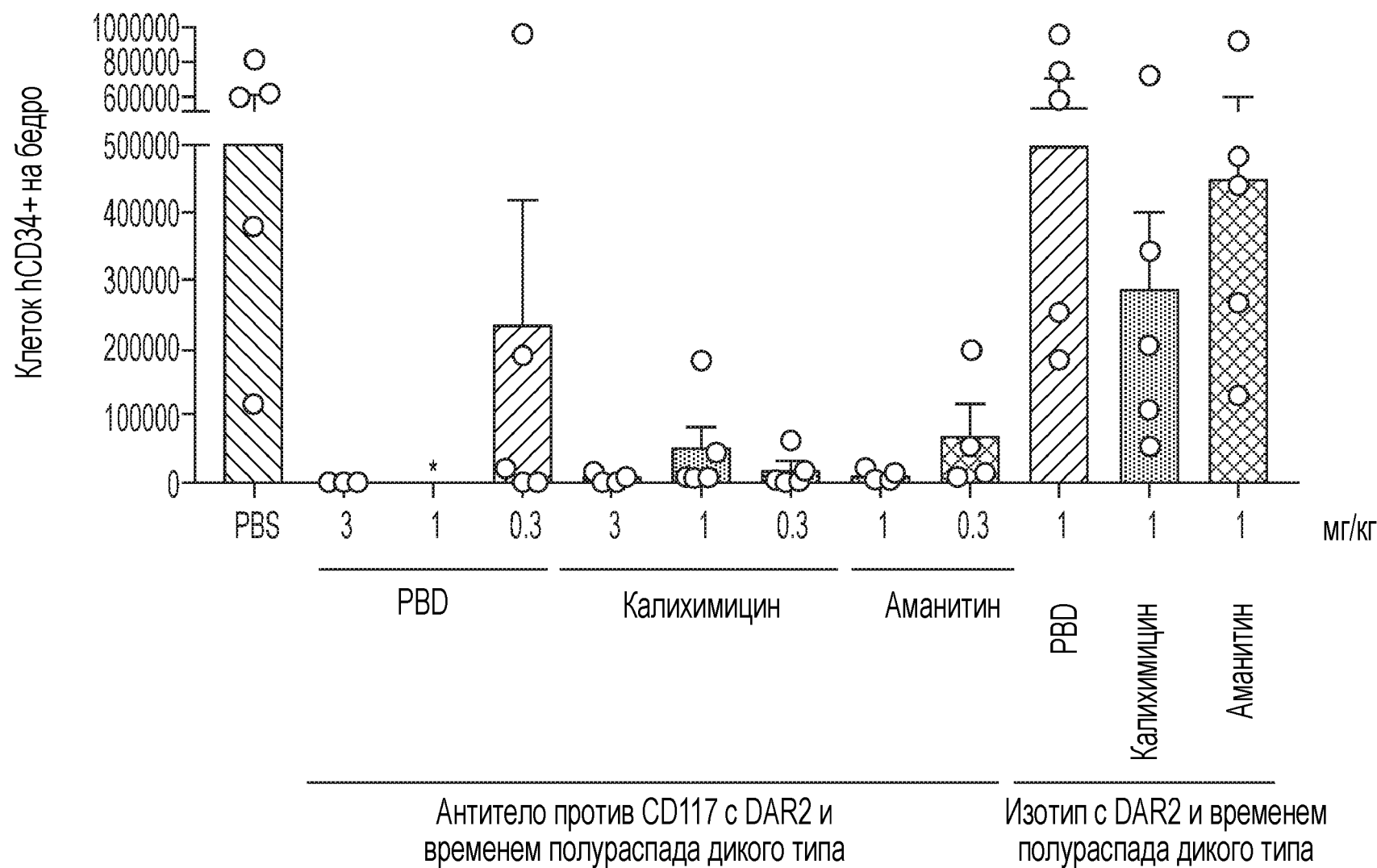
ФИГ.17А



ФИГ.17В

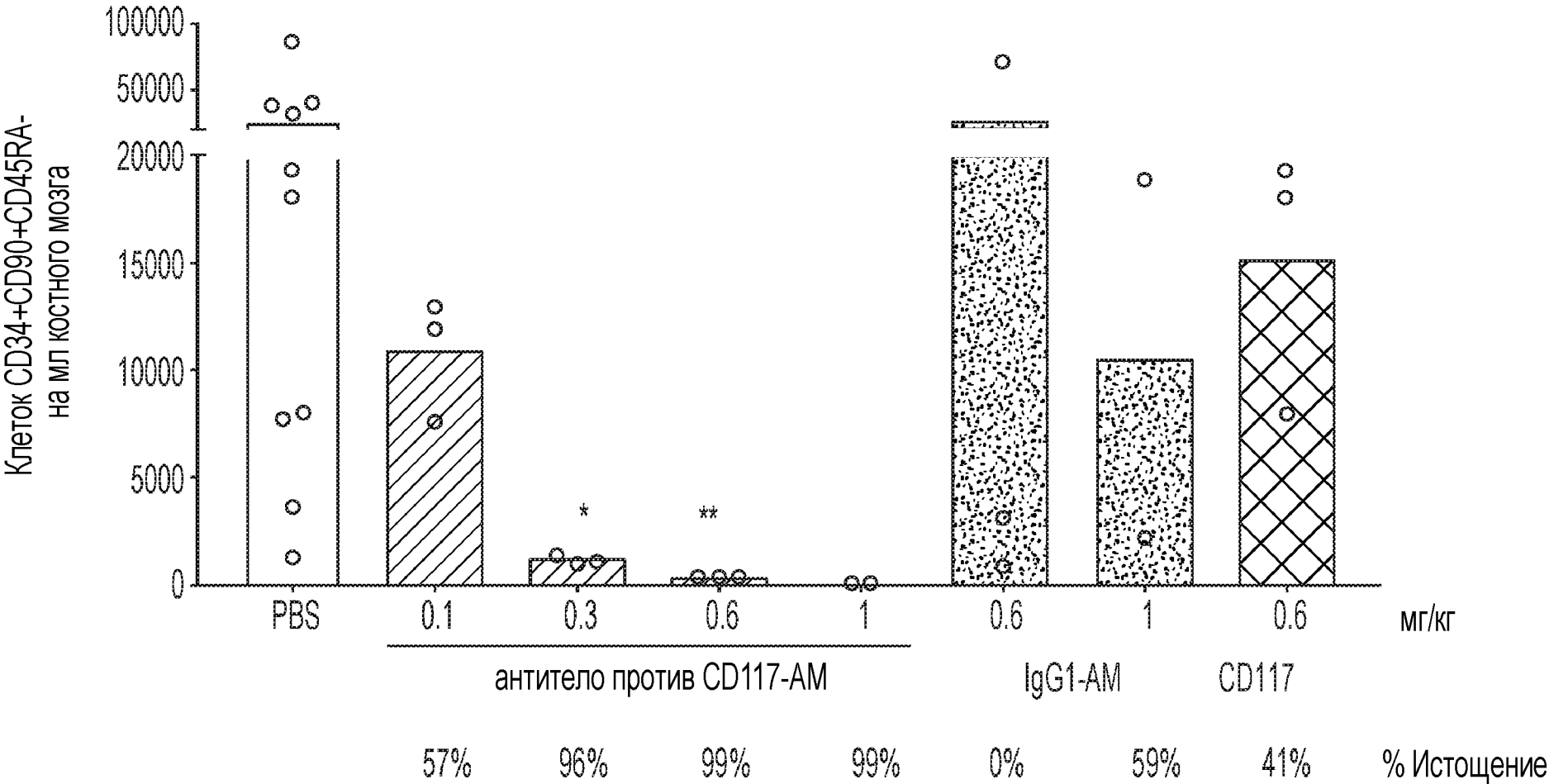


ФИГ.18

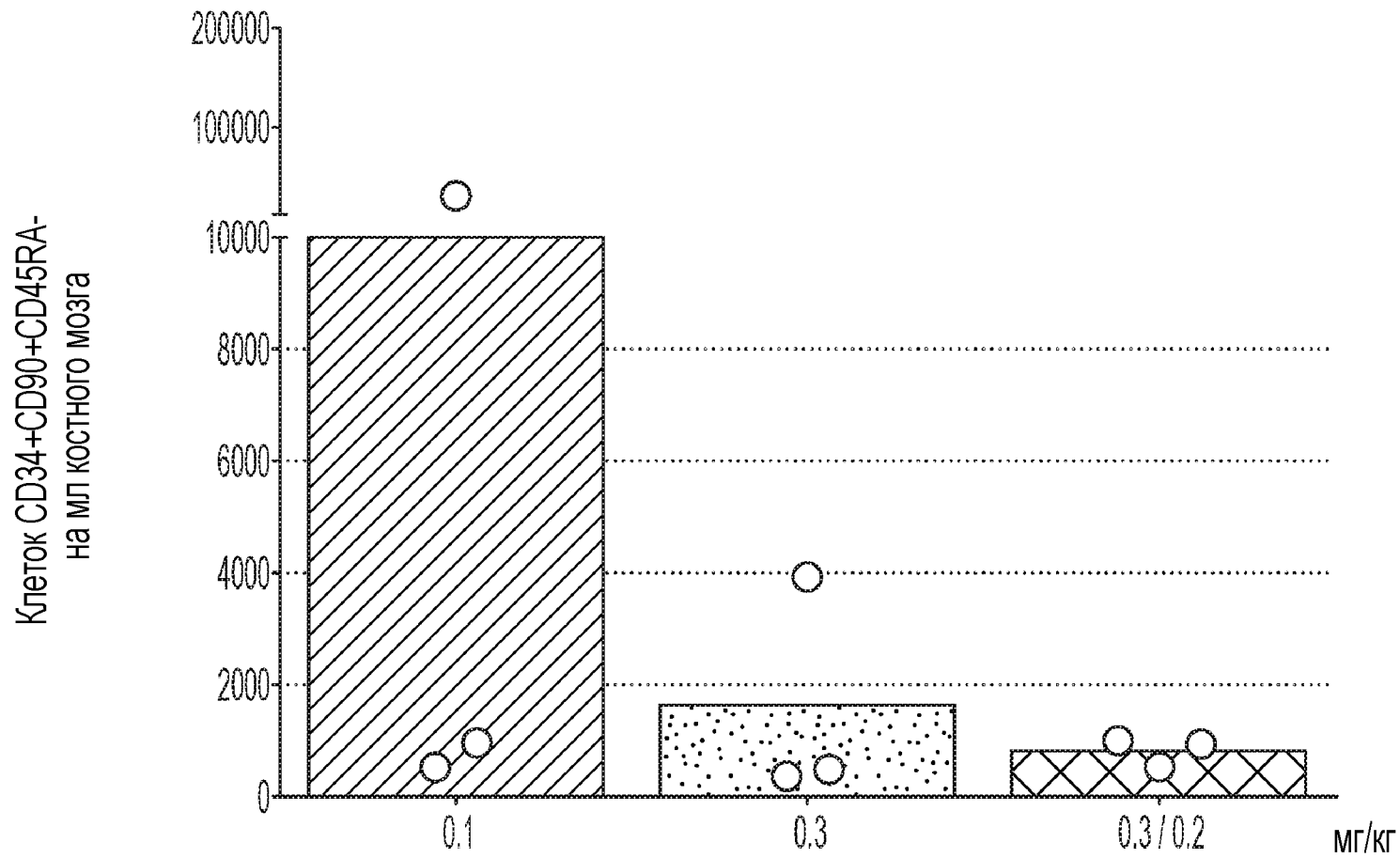


ФИГ.19

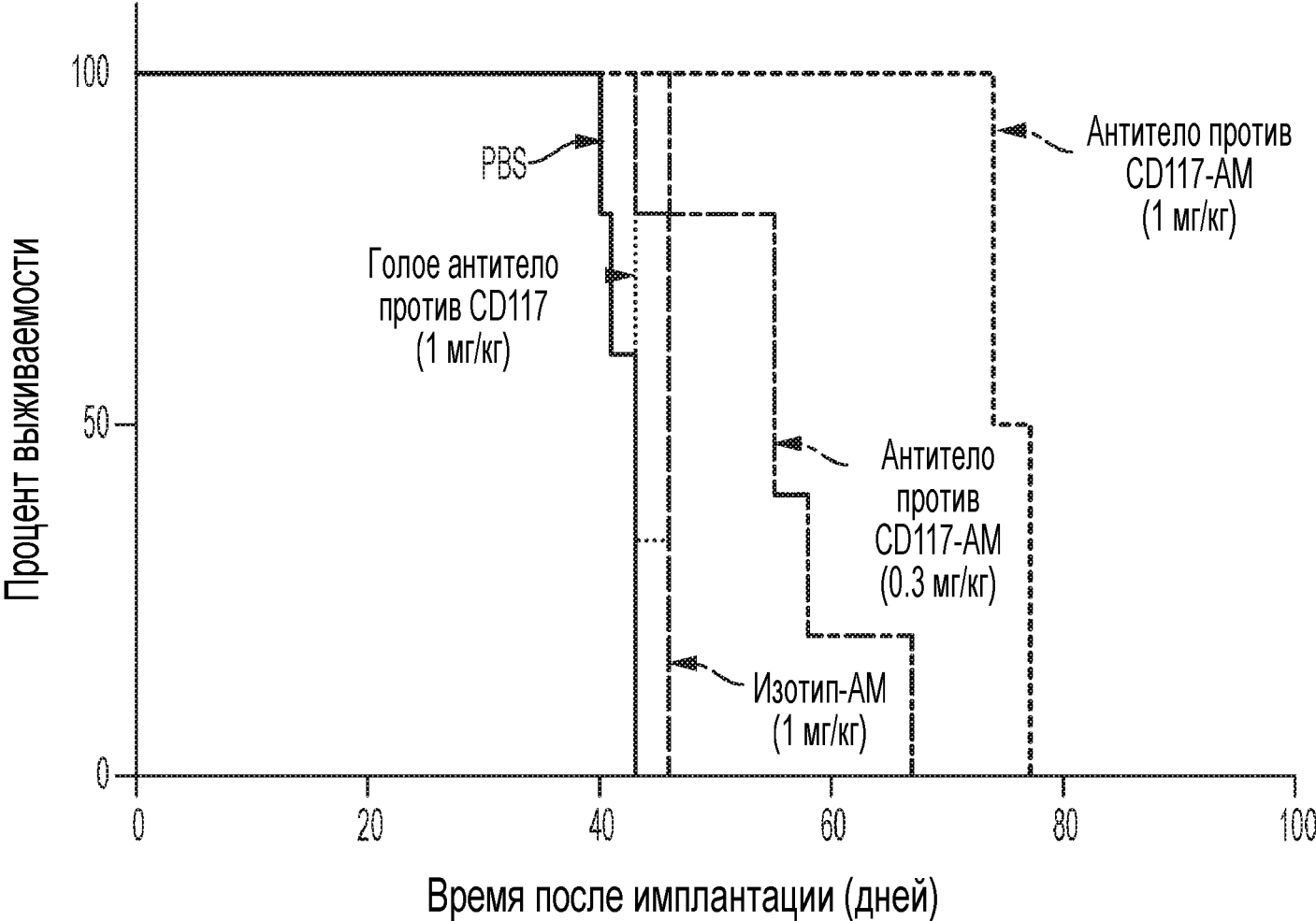
Количество гематopoэтических клеток и
клеток-предшественников в костном мозге



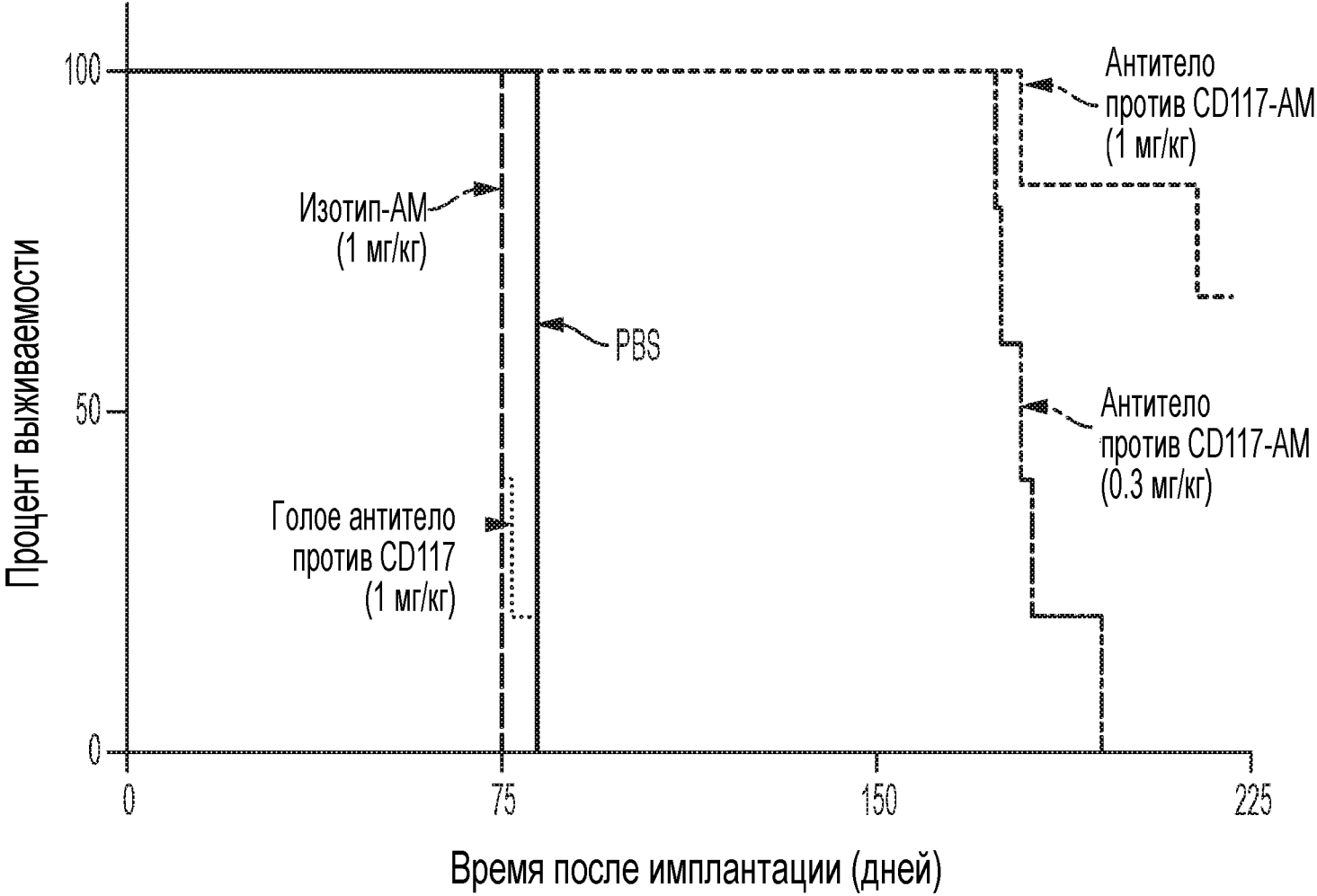
ФИГ.20



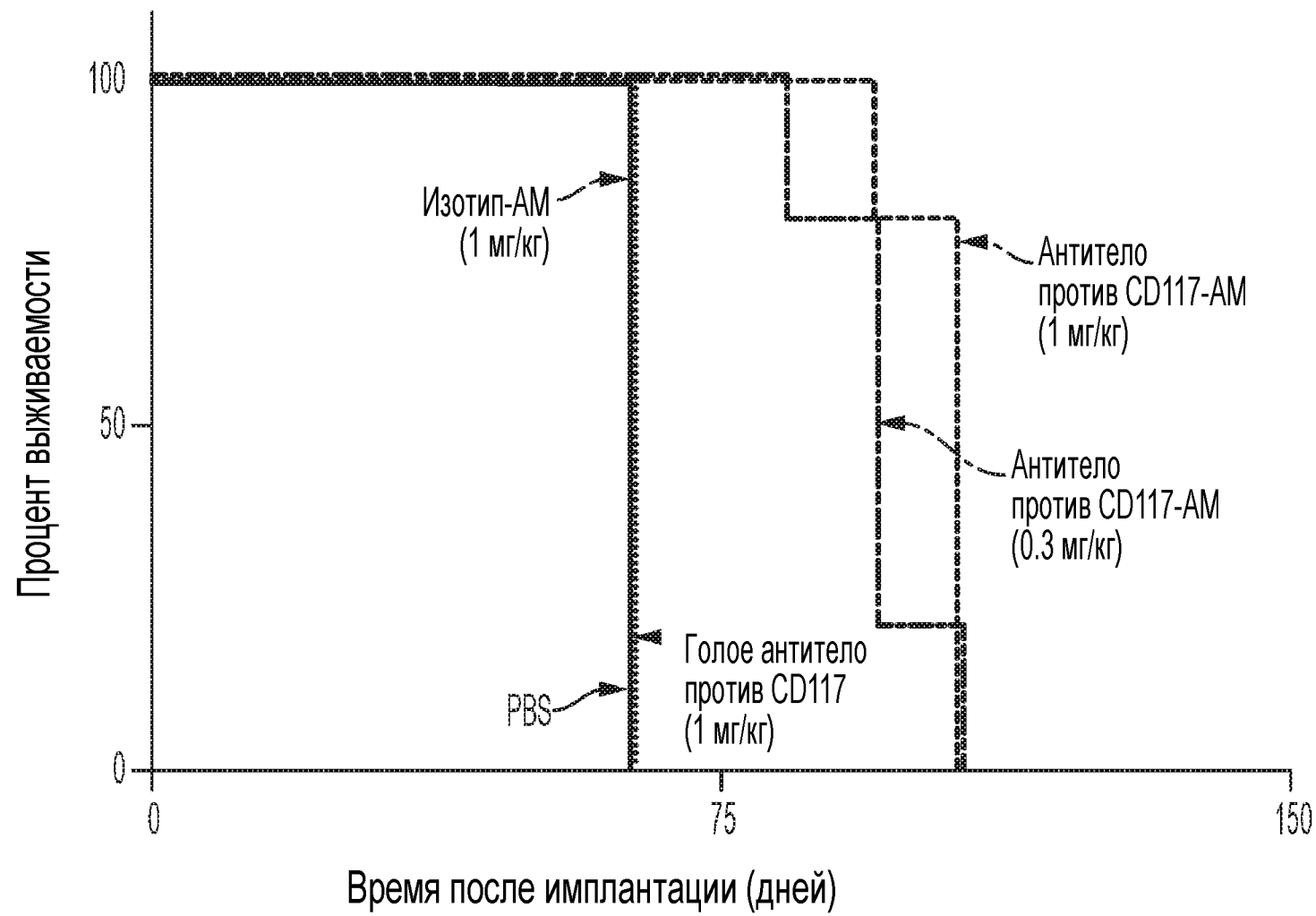
ФИГ.21А



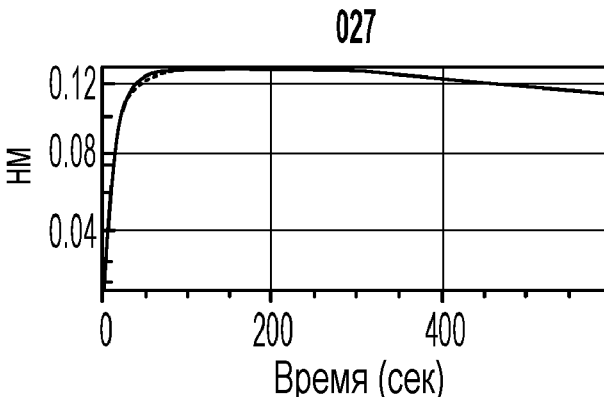
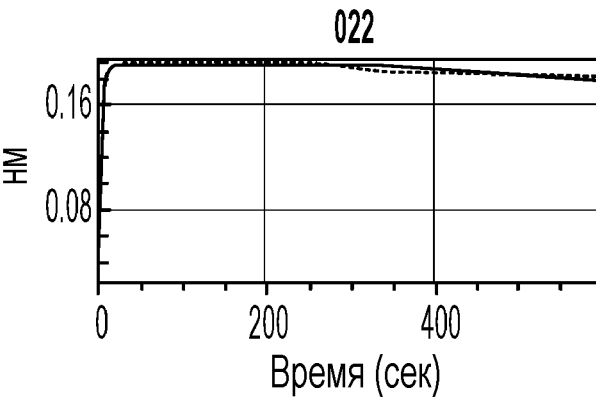
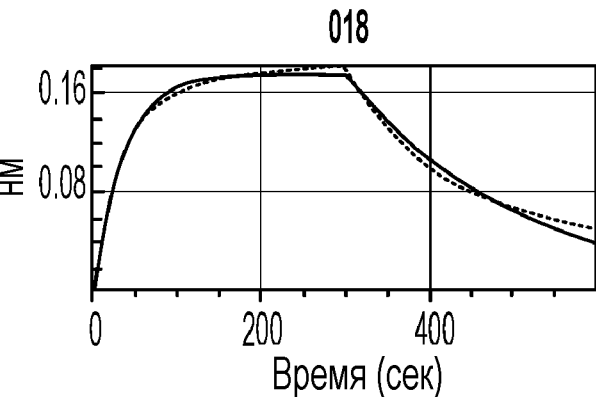
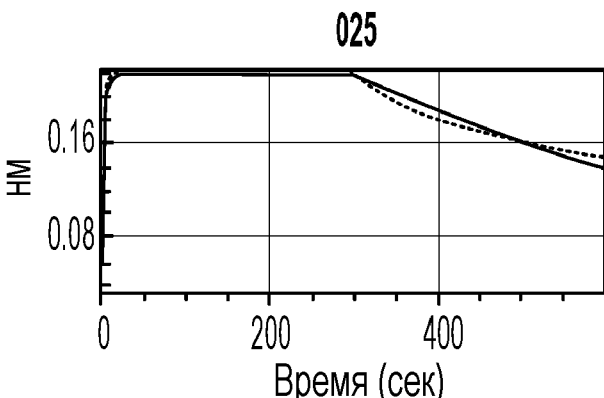
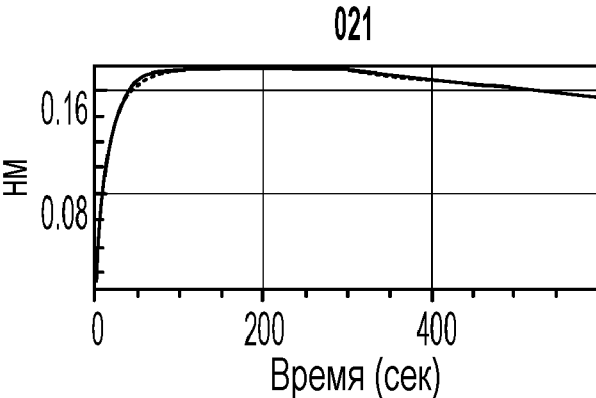
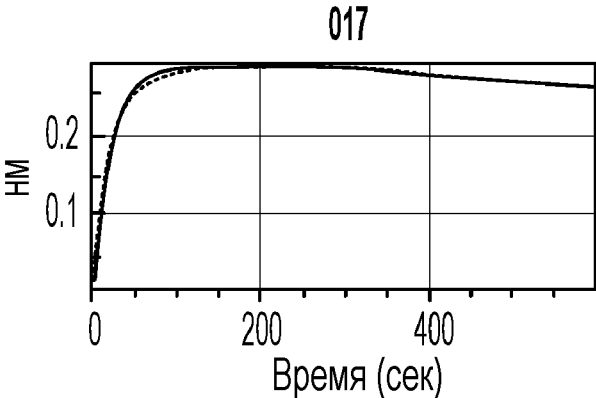
ФИГ.21В



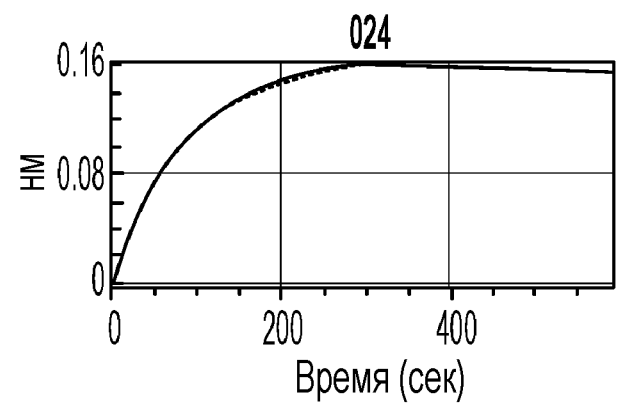
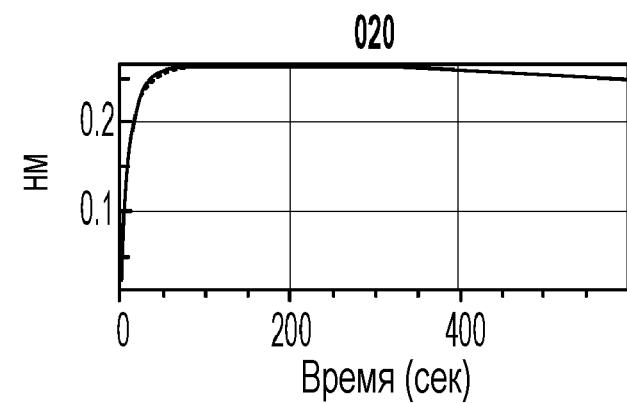
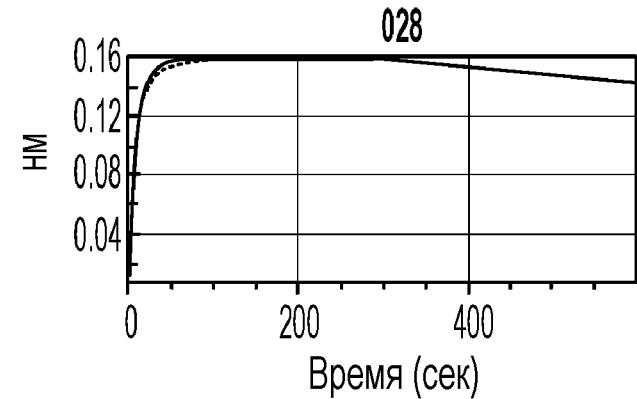
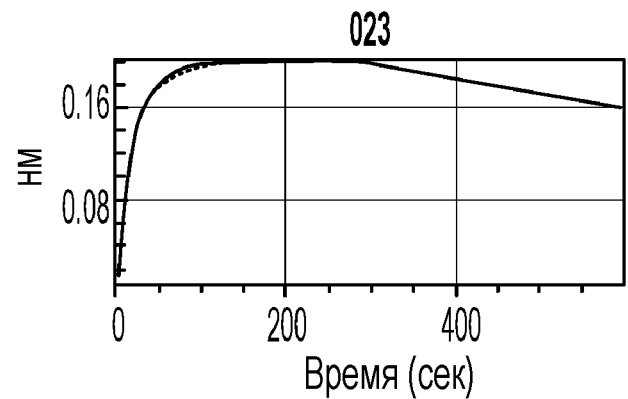
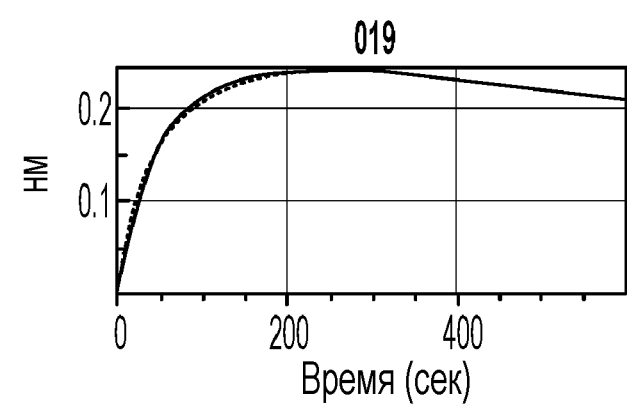
ФИГ.21С



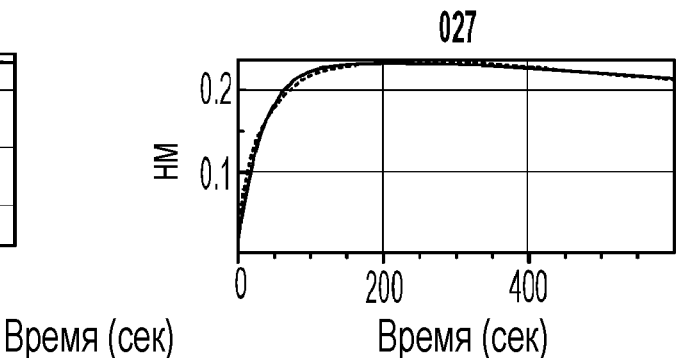
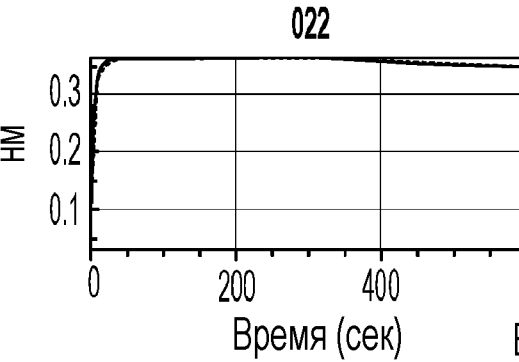
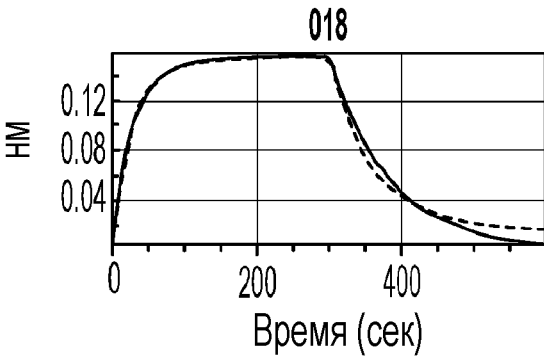
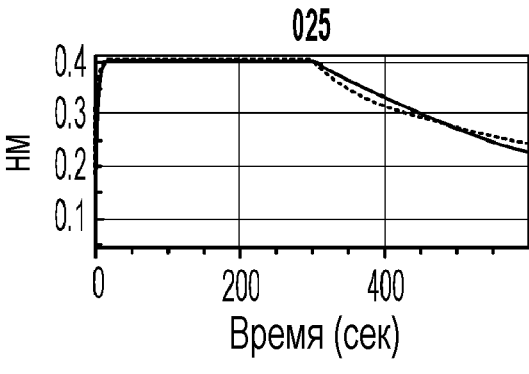
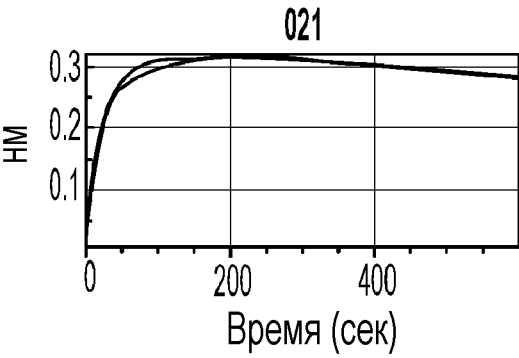
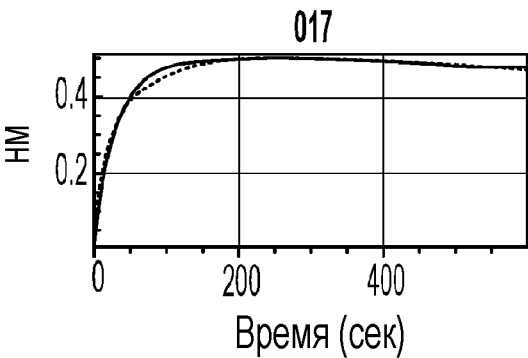
ФИГ.22



ФИГ.22 ПРОДОЛЖЕНИЕ



ФИГ.23



ФИГ.23 ПРОДОЛЖЕНИЕ

