

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202091540** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
2021.03.22

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)  
*C12Q 1/6851* (2018.01)

(22) Дата подачи заявки  
2018.12.20

---

(54) **АНТИТЕЛА К LILRB2**

---

(31) 62/610,050

(32) 2017.12.22

(33) US

(86) PCT/US2018/066819

(87) WO 2019/126514 2019.06.27

(88) 2019.08.08

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

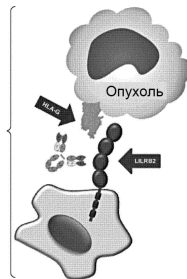
(72) Изобретатель:

Коэн Хезер Б., Маккензи Лорен  
Пеппер, Рамсэй Ясмин, Шэффер  
Дональд Рэймонд, Смит Джеффри  
Янь-Фэй, О'Малли Кристин Шанеа,  
Гуэй Кевин Патрик (US)

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

---

(57) В изобретении предложены различные варианты осуществления, относящиеся к антителам, которые связывают LILRB2. Антитела против LILRB2 можно применять в способах лечения заболевания, например злокачественного новообразования.



**A1**

**202091540**

**202091540**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-563232EA/081

### АНТИТЕЛА К LILRB2

#### ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Данная заявка содержит перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII и включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 13 декабря 2018 года, называется 51266-002WO2\_Sequence\_Listing\_12.13.18\_ST25 и имеет размер 206026 байт.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Миелоидные клетки, такие как дендритные клетки и макрофаги, могут инициировать адаптивную иммунную систему для вызова ответа против опухолевых клеток и патогенов путем презентации пептидных антигенов Т-клеткам, в то же время экспрессируя иммуногенные цитокины и костимулирующие сигналы, тем самым способствуя активации и пролиферации цитотоксических Т-клеток. Наоборот, в стационарном состоянии миелоидные клетки поддерживают толерантность к эндогенным белкам путем презентации аутоантигенов Т-клеткам в контексте неиммуногенных сигналов, таких как регуляторные цитокины, которые могут стимулировать регуляторные Т-клетки и подавлять иммуногенность.

Раковые клетки могут ускользать от иммунной системы, задействуя сигнальные пути, связанные с иммуносупрессивной или иммунорегуляторной презентацией антигена. Такие случаи ускользания представляют собой серьезное препятствие для стратегий лечения, основанных на повышении противоопухолевого иммунитета. Следовательно, существует потребность в терапевтических композициях и способах, которые предотвращают индуцированную опухолью иммуносупрессию и способствуют иммуногенной презентации опухолевых антигенов миелоидными клетками.

#### КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к антителам, которые специфически связываются с LILRB2 человека. Также предложены композиции антител против LILRB2 и способы применения антител против LILRB2 и их композиции.

В одном аспекте изобретение обеспечивает антитела, которые специфически связываются с LILRB2 человека, причем антитело содержит следующие определяющие комплементарность области (CDR): (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность JY(J)<sub>2</sub>G(J)<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 171); (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>2</sub>W(J)<sub>11</sub>KJ (SEQ ID NO: 172); (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>2</sub>I(J)<sub>3</sub>TDYV(J)<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 173); (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>8</sub>DLJ (SEQ ID NO: 174); (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 175); и (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>3</sub>YJYPLJ (SEQ ID NO: 176); где каждый J независимо представляет собой природную аминокислоту (см., например, таблицу 1 ниже).

В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 содержит аминокислотную последовательность SJW(J)<sub>11</sub>KJ (SEQ ID NO: 177) и/или CDR-L3 содержит аминокислотную последовательность (J)<sub>3</sub>YDYPLJ (SEQ ID NO: 178).

В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 содержит аминокислотную последовательность: (i) TYAMGVS (SEQ ID NO: 15); (ii) JYAMGVS (SEQ ID NO: 179); (iii) TYJMGVS (SEQ ID NO: 180); (iv) TYAJGVS (SEQ ID NO: 181); (v) TYAMGJS (SEQ ID NO: 182); (vi) TYAMGVJ (SEQ ID NO: 183); или (vii) вариант любого из пунктов (ii)-(vi), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 171. Таким образом, когда вариантную последовательность выравнивают с SEQ ID NO: 171, она содержит отличные от J аминокислоты, которые указаны в SEQ ID NO: 171. Таким образом, дополнительную аминокислоту J в варианте выравнивают с аминокислотой, которая представлена J в SEQ ID NO: 171.

В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 содержит аминокислотную последовательность: (i) SIWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 16); (ii) SJWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 184); (iii) SIWJNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 185); (iv) SIWWJGKNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 186); (v) SIWWNJKNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 187); (vi) SIWWNGJKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 188); (vii) SIWWNGNJYNNPSLKS (SEQ ID NO: 189); (viii) SIWWNGNKJNNPSLKS (SEQ ID NO: 190); (ix) SIWWNGNKYJNPSLKS (SEQ ID NO: 191); (x) SIWWNGNKYNJPSLKS (SEQ ID NO: 192); (xi) SIWWNGNKYNNJSLKS (SEQ ID NO: 193); (xii) SIWWNGNKYNNPJLKS (SEQ ID NO: 194); (xiii) SIWWNGNKYNNPSJKS (SEQ ID NO: 195); (xiv) SIWWNGNKYNNPSLKI (SEQ ID NO: 196); или (xv) вариант любого из пунктов (ii)-(xiv), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 172. Таким образом, когда вариантную последовательность выравнивают с SEQ ID NO: 172, она содержит отличные от J аминокислоты, которые указаны в SEQ ID NO: 172. Таким образом, дополнительную аминокислоту J в варианте выравнивают с аминокислотой, которая представляет собой J в SEQ ID NO: 172.

В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 содержит аминокислотную последовательность: (i) SRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 17); (ii) JRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 197); (iii) SJIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 198); (iv) SRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 199); (v) SRIIFFTDYVMDA (SEQ ID NO: 200); (vi) SRIIRJTDYVMDA (SEQ ID NO: 201); (vii) SRIIRFTDYVJDA (SEQ ID NO: 202); (viii) SRIIRFTDYVMJA (SEQ ID NO: 203); (ix) SRIIRFTDYVMDJ (SEQ ID NO: 204); или (x) вариант любого из пунктов (ii)-(ix), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 173. Таким образом, когда вариантную последовательность выравнивают с SEQ ID NO: 173, она содержит отличные от J аминокислоты, которые указаны в SEQ ID NO: 173. Таким образом, дополнительную аминокислоту J в варианте выравнивают с аминокислотой, которая представлена J в SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления CDR-L1 содержит аминокислотную

последовательность: (i) RASEDIYNDLA (SEQ ID NO: 18); (ii) JASEDIYNDLA (SEQ ID NO: 205); (iii) RJSEDIYNDLA (SEQ ID NO: 206); (iv) RAJEDIYNDLA (SEQ ID NO: 207); (v) RASJDIYNDLA (SEQ ID NO: 208); (vi) RASEJIYNDLA (SEQ ID NO: 209); (vii) RASEDJYNDLA (SEQ ID NO: 210); (viii) RASEDIJNDLA (SEQ ID NO: 211); (ix) RASEDIYJDLA (SEQ ID NO: 212); (x) RASEDIYNDLJ (SEQ ID NO: 213); или (xi) вариант любого из пунктов (ii)-(x), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 174. Таким образом, когда вариантную последовательность выравнивают с SEQ ID NO: 174, она содержит отличные от J аминокислоты, которые указаны в SEQ ID NO: 174. Таким образом, дополнительную аминокислоту J в варианте выравнивают с аминокислотой, которая представлена J в SEQ ID NO: 174.

В некоторых вариантах осуществления CDR-L2 содержит аминокислотную последовательность: (i) NANSLHT (SEQ ID NO: 19); (ii) JANSLHT (SEQ ID NO: 214); (iii) NJNSLHT (SEQ ID NO: 215); (iv) NAJSLHT (SEQ ID NO: 216); (v) NANJLHT (SEQ ID NO: 217); (vi) NANSJHT (SEQ ID NO: 218); (vii) NANSLJT (SEQ ID NO: 219); (viii) NANSLHJ (SEQ ID NO: 220); или (ix) вариант любого из пунктов (ii)-(viii), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 175. Таким образом, когда вариантную последовательность выравнивают с SEQ ID NO: 175, она содержит отличные от J аминокислоты, которые указаны в SEQ ID NO: 175. Таким образом, дополнительную аминокислоту J в варианте выравнивают с аминокислотой, которая представлена J в SEQ ID NO: 175.

В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 содержит аминокислотную последовательность: (i) QQYYDYPLT (SEQ ID NO: 20); (ii) JQYYDYPLT (SEQ ID NO: 221); (iii) QJYYDYPLT (SEQ ID NO: 222); (iv) QQJYDYPLT (SEQ ID NO: 223); (v) QQYYDYPLJ (SEQ ID NO: 224); или (vi) вариант любого из пунктов (ii)-(v), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 176. Таким образом, когда вариантную последовательность выравнивают с SEQ ID NO: 176, она содержит отличные от J аминокислоты, которые указаны в SEQ ID NO: 176. Таким образом, дополнительную аминокислоту J в варианте выравнивают с аминокислотой, которая представлена J в SEQ ID NO: 176.

В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 содержит аминокислотную последовательность JIWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 225) или ее вариант, содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 172, и/или CDR-L3 содержит аминокислотную последовательность QQYYJYPLT (SEQ ID NO: 226) или ее вариант, содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 176. Таким образом, когда вариантную последовательность выравнивают с SEQ ID NO: 176, она содержит отличные от J аминокислоты, которые указаны в SEQ ID NO: 176. Таким образом, дополнительную аминокислоту J в варианте выравнивают с аминокислотой, которая представлена J в SEQ ID NO: 176.

В различных вариантах осуществления вышеуказанного одна или более CDR содержат указанную дополнительную аминокислоту J. В дополнительных вариантах осуществления одна или более CDR содержат 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более дополнительных аминокислот J. В этих дополнительных вариантах осуществления каждую из дополнительных аминокислот J выравнивают с аминокислотой, которая представляет собой J в соответствующей общей формуле для CDR. Специально указанные аминокислоты общей формулы сохраняют.

В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 содержит аминокислотную последовательность  $(J)_2IHXJTDYV(J)_3$  (SEQ ID NO: 227), где X не представляет собой аргинин. В некоторых вариантах осуществления X выбран из группы, состоящей из аспартата, глутамата и аланина. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 содержит последовательность: (i) JRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 228); (ii) SJIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 229); (iii) SRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 230); (iv) SRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 231); (v) SRIIXJTDYVMDA (SEQ ID NO: 232); (vi) SRIIXFTDYVJDA (SEQ ID NO: 233); (vii) SRIIXFTDYVMJA (SEQ ID NO: 234); (viii) SRIIXFTDYVMDJ (SEQ ID NO: 235); или (ix) вариант любого из пунктов (ii)-(iii) или (v)-(viii), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи ( $V_H$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 или 113, и/или переменную область легкой цепи ( $V_L$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 или 114. В данном документе следует понимать, что если последовательность указывается в независимом пункте формулы изобретения, а зависимый пункт формулы изобретения допускает переменность в большей последовательности, охватывающей последовательность независимого пункта формулы изобретения, то эта переменность неприменима к последовательности, указанной в независимом пункте формулы изобретения.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи ( $V_H$ ), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 или 113, и/или переменную область легкой цепи ( $V_L$ ), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 или 114.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101 или 111, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 2, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102 или 112.

В другом аспекте изобретение обеспечивает антитело, которое специфически связывается с LLRB2 человека, причем антитело содержит следующие шесть определяющие комплементарность области (CDR): (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи ( $V_H$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, и вариабельную область легкой цепи ( $V_L$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, где область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15-17, и область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 53, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54, где область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15-17, и область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, и вариабельную область легкой цепи  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52.

В других вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 63, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична



содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15-17, и область V<sub>L</sub> содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область V<sub>H</sub>, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93, и область V<sub>L</sub>, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92.

В других вариантах осуществления антитело содержит область V<sub>H</sub>, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 103, и область V<sub>L</sub>, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 104, где область V<sub>H</sub> содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15-17, и область V<sub>L</sub> содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область V<sub>H</sub>, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и область V<sub>L</sub>, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102.

В других вариантах осуществления антитело содержит область V<sub>H</sub>, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 113, и область V<sub>L</sub>, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 114, где область V<sub>H</sub> содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15-17, и область V<sub>L</sub> содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область V<sub>H</sub>, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 113, и область V<sub>L</sub>, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

В другом аспекте изобретение обеспечивает антитело, которое специфически связывается с LILRB2 человека, причем антитело содержит следующие шесть CDR: (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; (e) CDR-L2,



содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; и (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, где область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5-7, и область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-10. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

В другом аспекте изобретение относится к антителу, которое специфически связывается с LILRB2 человека, причем антитело содержит следующие шесть CDR: (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 23, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 24, где область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25-27, и область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28-30. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

В другом аспекте изобретение относится к антителу, которое специфически связывается с LILRB2 человека, причем антитело содержит следующие шесть CDR: (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35; (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; (c) CDR-H3,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38; (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; и (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 33, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 34, где область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35-37, и область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38-40. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32.

В другом аспекте изобретение относится к антителу, которое специфически связывается с LILRB2 человека, причем антитело содержит следующие шесть CDR: (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46; (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47; (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; и (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 43, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 44, где область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 45-47, и область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 48-50. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42.

В некоторых вариантах осуществления любого из антител, описанных в данном документе, например, тех, которые описаны выше, тяжелая цепь антитела дополнительно

содержит С-концевой лизин.

Что касается всех аспектов и вариантов осуществления, кратко изложенных выше, при ссылке на конкретную последовательность изобретение также включает варианты последовательностей. В различных вариантах осуществления вариант может быть указан как содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более замен указанной последовательности.

В другом аспекте изобретение относится к антителу, которое перекрестно конкурирует за связывание с LILRB2 человека с антителом согласно предшествующим аспектам.

В другом аспекте изобретение относится к антителу, которое специфически связывается с LILRB2 человека и блокирует связывание HLA-G и/или HLA-A2 с LILRB2 человека. В некоторых вариантах осуществления блокирование определяют в анализе блокирования тетрамера HLA-G с использованием человеческих макрофагов моноцитарного происхождения, миелоидных клеток человека и/или клеточной линии, экспрессирующей LILRB2. В некоторых вариантах осуществления анализ включает применение гранул, конъюгированных с HLA-G. В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует тетрамер HLA-G с  $EC_{50}$  менее 20 нМ (например, менее 10 нМ, менее 5 нМ, менее 2 нМ, менее 1,0 нМ, менее 0,5 нМ или менее 0,2 нМ). В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует тетрамер HLA-G с  $EC_{50}$  менее 0,2 нМ. В некоторых вариантах блокирование определяют в анализе блокирования тетрамера HLA-A2 с использованием человеческих макрофагов моноцитарного происхождения. В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует тетрамер HLA-A2 с  $EC_{50}$  менее 20 нМ (например, менее 10 нМ, менее 5 нМ, менее 2 нМ, менее 1,0 нМ, менее 0,5 нМ или менее 0,2 нМ). В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует тетрамер HLA-A2 с  $EC_{50}$  менее 0,2 нМ. В любом из вышеуказанных вариантов осуществления, в которых антитело специфически связывается с LILRB2 человека и блокирует связывание HLA-G и/или HLA-A2 с LILRB2 человека, антитело может представлять собой любое из антител согласно любому другому одному или более аспектам изобретения.

В другом аспекте изобретение обеспечивает антитело, которое специфически связывается с LILRB2 человека, причем указанное антитело способно превращать M2-подобный макрофаг в M1-подобный макрофаг. В некоторых вариантах осуществления превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается повышенной экспрессией одного или более генов (например, одного, двух, трех, четырех, пяти или всех шести генов), выбранных из группы, состоящей из CXCL9, CXCL11, IRF1, TAP1, ИЛ-6R и ИЛ-15. Дополнительно или в качестве альтернативы, в некоторых вариантах осуществления превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается сниженной экспрессией одного или более генов (например, одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восемь или девяти генов), выбранных из группы, состоящей из ИЛ-10, CCL2, TGFBR2, CXCL13, ИЛ-21R, CD36, CR1, C1QB и TGFBI. В некоторых вариантах осуществления превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг определяют с использованием анализа гистокультуры опухоли. В некоторых

вариантах осуществления превращение М2-подобного макрофага в М1-подобный макрофаг определяют с использованием анализа первичных человеческих макрофагов с использованием человеческих макрофагов моноцитарного происхождения. В некоторых вариантах осуществления превращение М2-подобного макрофага в М1-подобный макрофаг отмечается повышенной экспрессией одного, двух или всех трех цитокинов, выбранных из группы, состоящей из ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, и/или превращение М2-подобного макрофага в М1-подобный макрофаг отмечается сниженной экспрессией одного или обоих цитокинов, выбранных из группы, состоящей из ИЛ-10 и ССЛ-2. В любом из вышеуказанных вариантов осуществления, в которых антитело способно превращать М2-подобный макрофаг в М1-подобный макрофаг, антитело может представлять собой любое из антител согласно любому другому одному или более аспектам изобретения.

В некоторых вариантах осуществления любого из предшествующих аспектов антитело связывается с LILRB2 с константой диссоциации ( $K_D$ ) менее 3,0 нМ (например, менее 1,5 нМ, менее 1,0 нМ или менее 750 пМ).

В некоторых вариантах осуществления любого из предшествующих аспектов антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления любого из предшествующих аспектов антитело представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, CDR-привитое антитело или человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления любого из предшествующих аспектов антитело содержит Fc-область, выбранную из группы, состоящей из нативной Fc-области, вариантной Fc-области и функциональной Fc-области. В некоторых вариантах осуществления любого из предшествующих аспектов антитело представляет собой конъюгатное антитело или является детектируемо меченым. В некоторых вариантах осуществления любого из предшествующих аспектов антитело представляет собой антитело IgG1, антитело IgG2, антитело IgG3 или антитело IgG4.

Во всех аспектах изобретения, если необязательный более конкретный вариант осуществления не согласуется с более общим вариантом осуществления, то он может считаться исключенным из общего варианта осуществления.

В другом аспекте изобретение обеспечивает молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид антитела согласно любому из предшествующих аспектов.

В другом аспекте изобретение относится к клетке-хозяину или вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид антитела согласно любому из предшествующих аспектов.

В другом аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело согласно любому из предшествующих аспектов или молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело согласно любому из предшествующих аспектов.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ включает введение субъекту

терапевтически эффективного количества антитела согласно любому из предшествующих аспектов. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой злокачественное новообразование (см., например, примеры типов злокачественных новообразований, перечисленных в данном документе в другом месте). В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение антитела в комбинации со вторым терапевтическим агентом (например, иммунотерапией или противораковой вакциной). В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент представляет собой иммунотерапию, включающую препарат против PD-1 и/или препарат против ICOS.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ усиления противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества согласно любому из предшествующих аспектов. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение антитела в комбинации со вторым терапевтическим агентом (например, иммунотерапией или противораковой вакциной). В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент представляет собой иммунотерапию, включающую препарат против PD-1 и/или препарат против ICOS.

В других аспектах изобретение включает применение антител, фармацевтических композиций и комбинаций для предотвращения, лечения, ослабления одного или более симптомов заболевания или патологического состояния (например, как описано в данном документе, например, злокачественного новообразования) или применения этих агентов для получения лекарственного препарата для этих целей.

В другом аспекте изобретение обеспечивает набор, содержащий фармацевтическую композицию, содержащую антитело согласно любому из предшествующих аспектов или молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело согласно любому из предшествующих аспектов, и инструкции по применению.

В дополнительном аспекте изобретение обеспечивает олигонуклеотид, содержащий фрагмент нуклеиновой кислоты, причем фрагмент нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере 16 последовательных остатков нуклеиновой кислоты в олигонуклеотидной последовательности CGTCACCCTCAGTTGTCAG (SEQ ID NO: 143) или TCCGTGTAATCCAAGATGCTG (SEQ ID NO: 158). В некоторых вариантах осуществления фрагмент нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере 16 последовательных остатков нуклеиновой кислоты олигонуклеотидной последовательности AGTCCCGTCACCCTCAGTTGTCAGGGGAG (SEQ ID NO: 169) или TCGTATCCGTGTAATCCAAGATGCTGATTTT (SEQ ID NO: 170).

Изобретение также включает набор праймеров для кПЦР, содержащий прямой праймер и обратный праймер, причем прямой праймер содержит фрагмент нуклеиновой кислоты, содержащий по меньшей мере 16 последовательных остатков нуклеиновой кислоты в олигонуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 143 или 169, и обратный праймер содержит фрагмент нуклеиновой кислоты, содержащий по меньшей мере 16

последовательных остатков нуклеиновой кислоты олигонуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 158 или 170, при этом набор праймеров для кПЦР необязательно содержится в наборе, который дополнительно содержит зонд, содержащий по меньшей мере 16 последовательных остатков SEQ ID NO: 167.

Кроме того, изобретение включает способ количественного определения оценки уровня экспрессии LILRB2 в биологическом образце, причем способ включает: (a) получение кДНК, полученной из биологического образца; (b) выполнение кПЦР на кДНК с использованием олигонуклеотида по п. 87 или п. 88, или набора праймеров для кПЦР, или набора по п. 89 для получения продукта амплификации, при этом кПЦР является специфическим для LILRB2; и (c) количественное определение продукта амплификации для определения уровня экспрессии LILRB2.

В другом аспекте изобретение обеспечивает применение антитела, как описано в данном документе (например, выше и в других местах в данном документе), для лечения или профилактики заболевания (например, злокачественного новообразования; см., например, ниже) у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения терапевтически эффективного количества антитела субъекту.

В дополнительном аспекте изобретение включает применение терапевтически эффективного количества антитела, как описано в данном документе (например, выше и в других местах в данном документе), для усиления противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества антитела субъекта.

В любом из указанных выше аспектов применение может дополнительно включать введение антитела в комбинации со вторым терапевтическим агентом (например, иммунотерапией (например, препаратом против PD-1 и/или препаратом против ICOS) или противораковой вакциной).

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

На Фиг. 1 представлено схематическое изображение модели LILRB2-экспрессирующей миелоидной клетки и HLA-G-экспрессирующей опухолевой клетки. Блокирующее антитело против LILRB2 показано между LILRB2, экспрессируемым на миелоидной клетке, и HLA-G, экспрессируемым на опухолевой клетке.

На Фиг. 2A-2L представлены графики для проточной цитометрии, на которых показано снижение количества маркеров созревания на ДК при помощи тетрамеров HLA-G. Экспрессию маркеров созревания оценивали с помощью проточной цитометрии на LILRB2<sup>hi/pos</sup> донорных (Фиг. 2A-2F) и LILRB2<sup>low/neg</sup> донорных (Фиг. 2G-2L) незрелых дендритных клетках (iDC), культивируемых на одних питательных средах (незакрашенные гистограммы, пунктирные линии) или созревшие с коктейлем цитокинов в отсутствие (незакрашенные гистограммы, сплошные линии) или в присутствии (закрашенные гистограммы) тетрамера HLA-G. Гистограммы гейтированы по живым клеткам, как показано на Фиг. 2A и 2G. На Фиг. 2B и 2H показана экспрессия LILRB2; на Фиг. 2C и 2I показана экспрессия CD11c; на Фиг. 2D и 2J показана экспрессия HLA-DR;

на Фиг. 2E и 2K показана экспрессия CD86; и на Фиг. 2F и 2L показана экспрессия CD80.

На Фиг. 3A и 3B представлены таблицы, в которых приведены результаты скрининга химерных антител против LILRB2. Заштрихованные прямоугольники указывают на результаты, которые соответствовали пороговым значениям для каждого скринингового анализа.

На Фиг. 4 представлен график, на котором приведены результаты клеточного скрининга перекрестной реактивности семейства LILR химерных мкАт против LILRB2. Со скрининга показаны hLILRB2-специфичные (закрашенные символы) и перекрестно-реактивные (незакрашенные символы) антитела. Антитела, для которых выявлено более чем двукратное связывание по сравнению с изотипическим контрольным мкАт, были идентифицированы как перекрестно-реактивные антитела к hLILR (пунктирная линия представляет это пороговое значение).

На Фиг. 5 представлен график, на котором приведены результаты клеточного блокирования HLA-G при помощи мкАт против LILRB2. Блокирующие HLA-G химерные мкАт против LILRB2 показаны белыми столбиками и идентифицированы как мкАт, способные блокировать связывание HLA-G на по меньшей мере 50% с hLILRB2+ клетками (пунктирная линия). Неблокирующие химерные мкАт против LILRB2 представлены черными столбцами, а изотипическое контрольное мкАт представлено серым столбцом.

На Фиг. 6 представлен график, на котором приведены результаты клеточного блокирования HLA-A2 при помощи мкАт против LILRB2. Блокирующие HLA-A2 химерные мкАт против LILRB2 показаны белыми столбиками и идентифицированы как мкАт, способные блокировать связывание HLA-A2 на по меньшей мере 50% с hLILRB2+ клетками (пунктирная линия). Неблокирующие химерные мкАт против LILRB2 представлены черными столбцами, а изотипическое контрольное мкАт представлено серым столбцом.

На Фиг. 7A и 7B представлены графики, на которых приведены результаты клеточных функциональных анализов мкАт против LILRB2. На Фиг. 7A показана продукция ФНО- $\alpha$  относительно изотипа. На Фиг. 7B показана продукция ИЛ-10 относительно изотипа. Изотипические контроли показаны серыми/серыми пунктирными линиями.

На Фиг. 8A и 8B представлены графики, на которых показана корреляция между блокированием лиганда и M1-стимулирующих цитокинами с помощью мкАт против LILRB2. В анализах первичных клеток наблюдали положительную корреляцию между блокированием HLA-G (Фиг. 8A) и блокированием HLA-A2 (Фиг. 8B) и ФНО- $\alpha$ , продуцируемым в ответ на мкАт против LILRB2 (черные кружки) Серым цветом показаны мкАт отрицательного контроля.

На Фиг. 9A-9C представлены графики, на которых приведена оценка перекрестной реактивности первичных клеток человека-NHP для мкАт против LILRB2. Антитела инкубировали с цельной кровью человека (Фиг. 9A), яванского макака (Фиг. 9B) и макака-

резуса (Фиг. 9С). мкАт против LILRB2 показали большее связывание для LILRB2+ популяций, включая моноциты (кружки) и нейтрофилы (квадраты), относительно связывания лимфоцитов (треугольники). Все мкАт против LILRB2 связывают человеческие моноциты и нейтрофилы, и было обнаружено, что один мкАт против LILRB2 проявляет межвидовое связывание с моноцитами и нейтрофилами яванского макака и макака-резуса. Столбцы указывают на среднее значение для двух доноров на вид.

На Фиг. 10А и 10В представлены графики, на которых приведена оценка связывания на клетке с предполагаемым СНО-экспрессируемым LILRB2 макака-резуса (LILRBb). Выбранный химерный мкАт против hLILRB2 (черный) селективно связывается с предполагаемым LILRBb макака-резуса (Фиг. 10А) в зависимости от дозы и специфическим образом. Этот мкАт против hLILRB2 не связывало близкородственный белок LILRBa макака-резуса (Фиг. 10В). Изотипическое контрольное мкАт (серый) не связывало ни одну линию клеток.

На Фиг. 11А и 11В представлены таблицы, в которых приведены результаты для характеристики гуманизированного антитела против LILRB2.

На Фиг. 12 представлен график, на котором приведены результаты скрининга перекрестной реактивности семейства LILR для гуманизированных мкАт против LILRB2. Со скрининга показаны hLILRB2-специфические (закрашенные символы) антитела. Никаких перекрестно-реактивных антител против LILR антител обнаружено не было.

На Фиг. 13 представлен график, на котором показано определение клеточной аффинности гуманизированных мкАт против hLILRB2. Все протестированные мкАт против hLILRB2 демонстрировали зависимое от дозы специфическое связывание с экспрессируемым клетками hLILRB2 (черный), тогда как изотипическое контрольное мкАт не связывало hLILRB2 (серый).

На Фиг. 14 представлен график, на котором показано клеточное блокирование HLA-G при помощи гуманизированных мкАт против LILRB2. Гуманизированные мкАт против hLILRB2 (черные, закрашенные кружки) блокируют взаимодействия HLA-G: hLILRB2 на первичных макрофагах человека в субнаномолярном диапазоне. Изотипическое контрольное мкАи (серый) и неблокирующее химерное мкАт против hLILRB2 (незакрашенные кружки) не нарушали взаимодействие между HLA-G и экспрессируемым клетками hLILRB2.

На Фиг. 15 представлен график, на котором показано клеточное блокирование HLA-A2 при помощи гуманизированных мкАт против LILRB2. Гуманизированные мкАт против hLILRB2 (черные, закрашенные кружки) блокируют взаимодействия HLA-A2: hLILRB2 на первичных макрофагах человека в субнаномолярном диапазоне. Изотипическое контрольное мкАи (серый) и неблокирующее химерное мкАт против hLILRB2 (незакрашенные кружки) не нарушали взаимодействие между HLA-A2 и экспрессируемым клетками hLILRB2.

На Фиг. 16А и 16В представлены графики, на которых показаны результаты клеточных функциональных анализов гуманизированных мкАт против LILRB2.



Гуманизированные мкАт против hLILRB2 (черные, заштрихованные кружки) проявляют M1-стимулирующую активность, измеряемую по продукции ФНО- $\alpha$  (Фиг. 16А), и супрессивную активность M2, измеряемую по снижению продукции ИЛ-10 (Фиг. 16В), ЛПС-стимулированными HMDM. мкАт отрицательного контроля, включая изотипический контроль (серый) и неблокирующее лиганд химерное мкАт против hLILRB2 (незакрашенные кружки), не проявляли активности в этом анализе.

На Фиг. 17А и 17В представлены графики, на которых приведены результаты оценки связывания на клетке с CHO-экспрессируемым LILRB2 макака-резуса (LILRBb). Выбранный гуманизированный мкАт против hLILRB2 (черный) селективно связывается с LILRBb макака-резуса (Фиг. 17А) в зависимости от дозы и специфическим образом. Этот мкАт против hLILRB2 не связывало близкородственный белок LILRBa макака-резуса (Фиг. 17В). Изотипическое контрольное мкАт (серый) не связывало ни одну линию клеток.

На Фиг. 18 представлен график рассеяния для большого массива данных, на котором показано  $\log_2$  (кратное изменение) экспрессии генов в ответ на обработку по сравнению с контролем паливизумабом в зависимости от  $-\log_{10}$  (номинальное р-значение). Каждая точка изображает среднее нормированное изменение экспрессии генов во всех образцах, получающих одинаковую обработку. Расчеты проводились в MATLAB<sup>®</sup>, а р-значения рассчитывали с использованием функции *ttest* (нулевая гипотеза заключается в том, что среднее нормированное  $\log_2$  (кратное изменение) экспрессии генов во всех образцах для конкретной обработки равно 0).

На Фиг. 19 представлена тепловая карта с иерархической кластеризацией, демонстрирующая  $\log_2$  (кратное изменение) в экспрессии генов каждого гена (строки) в каждом обработанном образце (столбце), нормированном к контролю IgG4 для каждого образца гистокультуры почки. Каждый ген в перечне демонстрировал дифференциальную экспрессию по меньшей мере для двух обработок с номинальным р-значением менее 0,055 (см. Таблицу 7). Экспрессия генов набора 1, как правило, подавляется в ответ на обработку (серые прямоугольники), а экспрессия генов набора 2, как правило, повышается в ответ на обработку (черные квадраты). Шумовое пороговое значение установлено равным 0,3 на основании распределения экспрессии генов домашнего хозяйства. В завершённой связной кластеризации, которая была выполнена в Spotfire, использовали евклидову метрику.

На Фиг. 20 представлен график, на котором приведен показатель ответа для каждого донора на каждое блокирующее лиганд антитело против LILRB2.

На Фиг. 21А и 21В представлены графики, на которых приведены показатели сигнатур монокультуры для каждого из трех антител против LILRB2 для каждого субъекта с отсутствием клинического ответа, субъекта с частичным клиническим ответом и субъекта с полным клиническим ответом.

На Фиг. 22 представлен график, на котором показано связывание сывороточного белка с антителами в зависимости от концентрации антител. Связывание сывороточного

белка с антителами к LILRB2 не наблюдали.

На Фиг. 23А-23D представлены графики, на которых показаны результаты анализа высвобождения цитокинов в цельной крови. На Фиг. 23А показана секреция ИЛ-4, на Фиг. 23В показана секреция ИЛ-6, на Фиг. 23С показана секреция ИЛ-8, а на Фиг. 23D показана секреция ФНО- $\alpha$ . В анализе выполняли инкубацию в течение 24 часов при 37 °С. Затем плазму выделяли с цитокинами и измеряли с использованием панели MSD с 10-цитокинами. Данные представляют собой среднее +/- станд.откл. от трех доноров.

На Фиг. 24А-24D представлены графики, на которых приведены результаты анализа активации нейтрофилов. На Фиг. 24А показана экспрессия CD11b (в виде геометрической средней интенсивности флуоресценции), на Фиг. 24В показан процент клеток с высоким уровнем CD11b, на Фиг. 24С показана экспрессия CD62L (в виде геометрической средней интенсивности флуоресценции), а на Фиг. 24D показан процент клеток с низким уровнем CD62L, каждый в ответ на различные концентрации антител. В анализе выполняли инкубацию в течение 2 часов при 37 °С. Изменения в маркерах активации нейтрофилов (увеличение CD11b и снижение CD62L) оценивали с помощью проточной цитометрии. Данные представляют собой среднее +/- станд.откл. от двух доноров.

На Фиг. 25 представлен график, на котором показана сывороточная концентрация антитела против LILRB2 у яванских макак в зависимости от времени после дозы 30 мг/кг или дозы три мг/кг. Данные представляют собой среднее +/- станд.откл. от трех отдельных обезьян.

На Фиг. 26А и 26В представлены графики, на которых показаны популяции нейтрофилов периферической крови, измеренные с помощью общего анализа крови (СВС) у яванских макак перед исследованием и после введения дозы антител против LILRB2. Данные представлены в виде абсолютного количества клеток (Фиг. 26А) и в процентах от общего числа (Фиг. 26В).

На Фиг. 27А и 27В представлены графики, на которых показан рост опухолей у мышей в зависимости от времени после инокуляции клетками В16.S1У. На Фиг. 27А показан рост опухоли у мышей дикого типа (ДТ), а на Фиг. 27В показан рост опухоли у мышей с нокаутом по PirB (Pirb<sup>-/-</sup>).

На Фиг. 28А и 28В представлены графики, на которых показан рост опухолей у мышей в зависимости времени после инокуляции клетками LLC. На Фиг. 28А показан рост опухоли у мышей ДТ, а на Фиг. 28В показан рост опухоли у Pirb<sup>-/-</sup> мышей.

На Фиг. 29А и 29В представлены графики, на которых показан рост опухолей у мышей с течением времени после инокуляции клетками МС38. На Фиг. 29А показан рост опухоли у мышей ДТ, а на Фиг. 29В показан рост опухоли у Pirb<sup>-/-</sup> мышей.

На Фиг. 30 показаны последовательности переменных областей тяжелой цепи (SEQ ID NO: 53) и легкой цепи (SEQ ID NO: 54) J-19.h1.

На Фиг. 31 представлена гистограмма ФД показателей ИФН- $\gamma$  ответа из 173 образцов опухолей из 80 опухолей, обработанных паливизумабом в течение 24 часов.

На Фиг. 32 представлена диаграмма Венна и диаграмма, описывающая частоту ФД ответа на J-19.h1 по 3 показаниям: почечно-клеточный рак, рак головы и шеи и рак легкого.

На Фиг. 33 представлена серия графиков, на которых показаны показатели сигнатур Keytruda, рассчитанные для необработанных образцов, на основе нормированной экспрессии генов (необработанные данные экспрессии гена нормируют относительно генов домашнего хозяйства и зондов отрицательного контроля, затем трансформируют при помощи  $\log_2$ ).

На Фиг. 34, левая панель, представлена таблицу, в которой приведены средние ФД показатели сигнатуры ИФН- $\gamma$ , рассчитанные для 18 опухолей головы и шеи в ответ на J-19.h1, пембролизумаб или J-19.h1 в комбинации с пембролизумабом.

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ**

В общем, данное изобретение относится к антителам против лейкоцитарного иммуноглобулин-подобного рецептора B2 (LILRB2), например, к антителам, которые могут применяться для лечения заболевания (например, злокачественного новообразования). Данное изобретение частично основано на открытии того, что можно получать антитела, которые одновременно (1) специфичны для LILRB2 (например, в том, что они не связывают других членов семейства LILRA и LILRB), (2) способны блокировать связывание HLA-G и/или HLA-A2 с LILRB2 на макрофагах и (3) способны стимулировать провоспалительный фенотип в контактирующих макрофагах. Действительно, данная заявка раскрывает идентификацию трех независимых семейств таких антител и раскрывает, что антитела с вышеуказанными свойствами способны индуцировать ассоциированные с опухолью макрофаги к проявлению противораковых свойств. Частично основываясь на этих свойствах, а также на благоприятных фармакокинетических свойствах и свойствах безопасности на животных моделях, относящихся к физиологии человека, раскрытые антитела являются кандидатами для терапевтического применения у людей.

Предложены антитела, которые специфически связывают LILRB2 (например, LILRB2 человека). Также предложены тяжелые цепи и легкие цепи антител, которые способны образовывать антитела, которые связывают LILRB2 (например, LILRB2 человека). Кроме того, предложены антитела, тяжелые цепи и легкие цепи, содержащие одну или более конкретных определяющих комплементарность областей (CDR). Также предложены антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с LILRB2 (например, LILRB2 человека) с любым из антител, описанных в данном документе. В некоторых аспектах данное изобретение обеспечивают антитела, которые специфически связываются с LILRB2 (например, LILRB2 человека) и блокируют связывание HLA-G и/или HLA-A2 с LILRB2 человека. Также предложены антитела, которые специфически связываются с LILRB2 (например, LILRB2 человека) и способны превращать M2-подобный макрофаг в M1-подобный макрофаг. Предложены полинуклеотиды,

кодирующие антитела к LILRB2 (например, любое из антител к LILRB2, предложенных в данном документе). Также предложены полинуклеотиды, кодирующие тяжелые цепи антител или их легкие цепи. Также предложены клетки-хозяева, содержащие полинуклеотиды, описанные в данном документе. Кроме того, предложены фармацевтические композиции, содержащие любое из антител или полинуклеотидов, предложенных в данном документе. Предложены способы лечения с применением антител к LILRB2. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, способы лечения злокачественного новообразования.

Заголовки разделов, используемые в данном документе, предназначены только для организационных целей и не должны рассматриваться как ограничивающие заявленный предмет.

Все ссылки, цитируемые в данном документе, включая патентные заявки, патентные публикации и учетные номера базы данных Genbank, включены в данный документ посредством ссылки, как если бы каждая отдельная ссылка была специально и индивидуально указана для включения посредством ссылки во всей ее полноте.

Методики и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, как правило, хорошо известны и/или обычно применяются с использованием традиционной методологии специалистами в данной области техники, такие как, например, широко используемые методологии, описанные в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd. edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. *Current Protocols in Molecular Biology* (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003)); the series *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.); *PCR 2: A Practical Approach* (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, and *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney, ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney), ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures* (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; *Handbook of Experimental Immunology* (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan et al., eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999); *Immunobiology* (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); *The Antibodies* (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); and *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V. T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993); и их обновленные версии.

## **I. Определения**

Если не указано иное, научные и технические термины, используемые в данной заявке, должны иметь значения, которые обычно понимаются средними специалистами в данной области техники. Кроме того, если контекст не требует иного и явно не указано, термины в единственном числе включают множественное число, а термины в множественном числе включают единственное число. В случае любого противоречия в определениях между различными источниками или ссылками будет использоваться определение, приведенное в данном документе.

Понятно, что варианты осуществления изобретения, описанные в данном документе, включают «состоящий» и/или «состоящие по существу из» вариантов осуществления. В контексте данного документа, слова в единственном числе означают также и множественное число, если не указано иное. Использование термина «или» в данном документе не означает, что альтернативные варианты являются взаимоисключающими.

В данной заявке использование «или» означает «и/или», если это особо не оговорено или подразумевается специалистом в данной области техники. В контексте пункта формулы изобретения, зависящего от другого зависимого пункта формулы изобретения, использование «или» относится к более чем одному предшествующему независимому или зависимому пункту формулы изобретения.

Термины «молекула нуклеиновой кислоты», «нуклеиновая кислота», и «полинуклеотид» могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к полимеру нуклеотидов. Такие полимеры нуклеотидов могут включать природные и/или неприродные нуклеотиды и могут включать, но не ограничиваться ими, ДНК, РНК и ПНК. «Нуклеотидная последовательность» относится к линейной последовательности нуклеотидов, которая включает молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

Термины «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Такие полимеры аминокислотных остатков могут содержать природные или не встречающиеся в природе аминокислотные остатки и включают, но не ограничиваясь этим, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры аминокислотных остатков. В это определение включены как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Эти термины также включают пост-экспрессионные модификации полипептида, например, гликозилирование, сиалирование, ацетилирование, фосфорилирование и тому подобное. Кроме того, для целей данного изобретения термин «полипептид» относится к белку, который содержит модификации, такие как делеции, добавления и замены (обычно консервативные по природе), в нативной последовательности, при условии, что белок поддерживает желаемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, путем сайт-направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, в результате мутаций хозяев, которые продуцируют белки, или ошибок вследствие ПЦР-амплификации.

Термин «специфически связывает» с антигеном или эпитопом является термином,

который хорошо известен в данной области техники, и способы определения такого специфического связывания также хорошо известны в данной области техники. Термин применим, когда говорят, что молекула проявляет «специфическое связывание» или «преимущественное связывание», если она реагирует или ассоциируется чаще, быстрее, с большей продолжительностью и/или с большей аффинностью с конкретной клеткой или веществом, чем с альтернативными клетками или веществами. Антитело «специфически связывается» или «предпочтительно связывается» с мишенью, если оно связывается с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем оно связывается с другими веществами. Например, антитело, которое специфически или предпочтительно связывается с эпитопом LILRB2, представляет собой антитело, которое связывает этот эпитоп с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем оно связывается с другими эпитопами LILRB2 или эпитопами не-LILRB2. Понятно также, что после прочтения этого определения, например, антитело (или фрагмент или эпитоп), которое специфически или предпочтительно связывается с первой мишенью, может или не может специфически или предпочтительно связываться со второй мишенью. В частности, термин «специфическое связывание» или «предпочтительное связывание» необязательно включает (хотя может включать) исключительное связывание. В большинстве случаев, но необязательно, ссылка на связывание означает предпочтительное связывание. Термин «специфичность» относится к способности связывающего белка селективно связывать антиген.

В контексте данного документа термин «по существу чистый» относится к веществу, которое на по меньшей мере 50% является чистым (то есть не содержит загрязнений), например, на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% является чистым.

Термин «перекрестно конкурирует» относится к конкурентному связыванию одной молекулы с другой, например, путем связывания со всем или частью одного и того же эпитопа. Перекрестная конкуренция может быть обнаружена с использованием экспериментов, описанных в данном документе (например, биослойной интерферометрии), например, путем обнаружения отсутствия сигнала положительного ответа при добавлении второго антитела к сенсору после того, как первое антитело связалось с сигналом. В конкретных вариантах осуществления одно антитело к LILRB2 перекрестно конкурирует с другим антителом к LILRB2 за связывание с LILRB2. Характеристика такой перекрестной конкуренции между антителами к LILRB2 описана, например, в Примере 3.

Термин «антитело» в данном документе используется в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая, но не ограничиваясь ими, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические (например, привлекающие Т-клетки биспецифические активаторы) и триспецифические антитела) и фрагменты антител при условии, что они проявляют желаемую антигенсвязывающую активность.

Термин антитело включает, но не ограничивается ими, фрагменты, которые способны связываться с антигеном, таким как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab', ди-scFv, sdAb (однодоменное антитело) и (Fab')<sub>2</sub> (включая химически связанный F(ab')<sub>2</sub>). При расщеплении антител папаином образуются два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых фрагментами «Fab», каждый из которых имеет один антигенсвязывающий участок, и остаточный фрагмент «Fc», название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Обработка пепсином дает фрагмент F(ab')<sub>2</sub>, который имеет два антигенсвязывающих центра антитела и все еще способен к перекрестному связыванию антигена. Термин антитело также включает, но не ограничивается ими, химерные антитела, гуманизированные антитела и антитела различных видов, таких как мышь, человек, яванский макак и т.д. Кроме того, для всех конструкторов антител, предложенных в данном документе, также рассматриваются варианты, имеющие последовательности из других организмов. Таким образом, если раскрыта версия антитела человека, специалист в данной области поймет, как преобразовать антитело на основе человеческой последовательности в мышиную, крысиную, кошачью, собачью, лошадиную последовательность и т.д. Фрагменты антител также включают или ориентацию одноцепочечного scFv, tandemного ди-scFv, диатела, tandemного три-sdcFv, миниантитела и т.д. Фрагменты антител также включают нанотела (sdAb, антитело, имеющее один мономерный домен, такой как пара переменных доменов тяжелых цепей без легкой цепи). Фрагмент антитела может относиться к специфическим видам в некоторых вариантах осуществления (например, scFv человека или scFv мыши). Это обозначает последовательности по меньшей мере части областей, не относящихся к CDR, а не источника конструкции.

Термин «моноклональное антитело» относится к антителу по существу гомогенной популяции антител, то есть, отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими и направлены против одного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене. Таким образом, образец моноклонального антитела может связываться с одним и тем же эпитопом на антигене. Модификатор «моноклональный» указывает на характер антитела, получаемого из по существу гомогенной популяции антител, и его не следует истолковывать как требующее получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела могут быть получены гибридным способом, впервые описанным в Kohler and Milstein, 1975, Nature 256:495, или могут быть получены способами рекомбинантной ДНК, например, описанными в патенте США № 4816567. Моноклональные антитела также могут быть выделены из фаговых библиотек, полученных с использованием способов, описанных, например, в McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554.

Термин «CDR» обозначает определяющую комплементарность область как определено согласно системе нумерации по Кабату. Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Примеры CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) соответствуют аминокислотным остаткам 24-34 L1, 50-56 L2, 89-97 L3, 31-35В H1, 50-65 H2 и 95-102 H3. CDR также могут быть предоставлены в том виде, как показано на одной или более сопровождающих фигурах. За исключением CDR1 в вариабельной области тяжелой цепи ( $V_H$ ), CDR, как правило, содержат аминокислотные остатки, которые образуют гипервариабельные петли. Различные CDR в пределах антитела могут быть обозначены их соответствующим числом и типом цепи, включая, без ограничения, следующие: а) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3; б) CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2 и CDRH3; в) LCDR-1, LCDR-2, LCDR-3, HCDR-1, HCDR-2 и HCDR-3; или д) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 и HCDR3; т.д. В контексте данного документа термин «CDR» также охватывает HVR или «гипервариабельную область», включая гипервариабельные петли. Примеры гипервариабельных петель соответствуют аминокислотным остаткам 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3). (Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917.)

В контексте данного документа термин «вариабельная область тяжелой цепи или  $V_H$ » относится к области, содержащей по меньшей мере три CDR тяжелые цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит три CDR и по меньшей мере FR2 и FR3. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи содержит по меньшей мере тяжелую цепь HCDR1, каркас (FR) 2, HCDR2, FR3 и HCDR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи также содержит по меньшей мере часть FR1 и/или по меньшей мере часть FR4.

В контексте данного документа термин «константная область тяжелой цепи» относится к области, содержащей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  и  $C_{H3}$ . Конечно, не изменяющие функции делеции и изменения в пределах доменов включены в объем термина «константная область тяжелой цепи», если не указано иное. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\alpha$ . Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи также включают  $\epsilon$  и  $\mu$ . Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотипу антитела. Например, антитело, содержащее константную область  $\gamma$ , представляет собой антитело IgG, антитело, содержащее константную область  $\delta$ , представляет собой антитело IgD, и антитело, содержащее константную область  $\alpha$ , представляет собой антитело IgA. Кроме того, антитело, содержащее константную область  $\mu$ , представляет собой антитело IgM, и антитело, содержащее константную область  $\epsilon$ , представляет собой антитело IgE. Определенные изотипы могут быть дополнительно подразделены на подклассы. Например, антитела IgG включают, но без ограничения этим, антитела IgG1 (содержащие



константную область  $\gamma_1$ ), IgG2 (содержащие константную область  $\gamma_2$ ), IgG3 (содержащие константную область  $\gamma_3$ ) и IgG4 (содержащие константную область  $\gamma_4$ ); антитела IgA включают, но без ограничения этим, антитела IgA1 (содержащие константную область  $\alpha_1$ ) и антитела IgA2 (содержащие константную область  $\alpha_2$ ); и антитела IgM включают, но не ограничиваясь этим, IgM1 и IgM2.

В контексте данного документа термин «тяжелая цепь» относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере переменную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи. В контексте данного документа термин «полноразмерная тяжелая цепь» относится к полипептиду, содержащему переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

В контексте данного документа термин «переменная область легкой цепи» или  $V_L$  относится к области, содержащей по меньшей мере три CDR легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит три CDR и по меньшей мере FR2 и FR3. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит по меньшей мере легкую цепь LCDR1, каркас (FR) 2, LCDR2, FR3 и LCDR3. Например, переменная область легкой цепи может содержать легкую цепь CDR1, каркас (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи также содержит по меньшей мере фрагмент FR1 и/или по меньшей мере фрагмент FR4.

В контексте данного документа термин «константная область легкой цепи» относится к области, содержащей константный домен легкой цепи  $C_L$ . Неограничивающие примеры константных областей легкой цепи также содержат  $\lambda$  и  $\kappa$ . Конечно, не изменяющие функции делеции и изменения в пределах доменов включены в объем термина «константная область легкой цепи», если не указано иное.

В контексте данного документа термин «легкая цепь» относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере переменную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В контексте данного документа термин «полноразмерная легкая цепь» относится к полипептиду, содержащему переменную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

В контексте данного документа «акцепторная каркасная область человека» представляет собой каркасную область, которая содержит аминокислотную последовательность каркасной области переменного домена легкой цепи ( $V_L$ ) или каркасной области переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), которая получена из каркасной области иммуноглобулина человека или консенсусной каркасной области человека, как определено ниже. Акцепторная каркасная область человека, полученная из каркасной области иммуноглобулина человека или консенсусной каркасной области

человека, может содержать такую же аминокислотную последовательность, как и указанная, или может содержать изменения в аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления число аминокислотных изменений составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее, или 2 или менее. В некоторых вариантах осуществления последовательность акцепторной каркасной области  $V_L$  человека идентична последовательности каркасной области  $V_L$  иммуноглобулина человека или консенсусной последовательности каркасной области человека.

«Аффинность» относится к силе общей суммы нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антителом) и его партнером по связыванию (например, антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно может быть представлена равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ). Аффинность может быть измерена общепринятыми способами, известными в данной области техники (такими как, например, ИФА,  $K_D$ , KinExA, бислойная интерферометрия (BLI) и/или устройства поверхностного плазмонного резонанса (например, устройство BIACORE®), включая те, которые описаны в данном документе).

В контексте данного документа термин « $K_D$ » относится к равновесной константе диссоциации взаимодействия антитело-антиген.

В некоторых вариантах осуществления « $K_D$ » антитела измеряют с использованием анализов поверхностного плазмонного резонанса с использованием BIACORE®-2000 или BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., г. Пискатауэй, штат Нью-Джерси, США) при 25 °C с чипами CM5 с иммобилизованными антигенами при ~ 10 единицах ответа (RU). Вкратце, биосенсорные чипы карбоксиметилированного декстрана (CM5, BIACORE, Inc.) активируют гидрохлоридом N-этил-N'--(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и N-гидроксисукцинимидом (NHS) в соответствии с инструкциями поставщика. Антиген разбавляют 10 mM ацетатом натрия, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~ 0,2 мкМ), перед инъекцией со скоростью потока 5 мкл/минуту, чтобы получить приблизительно 10 единиц ответа (RU) связанного белка. После введения антигена вводили 1 M раствор этаноламина для блокирования непрореагировавших групп. Для измерения кинетики вводят серийные разведения полипептида, например, полноразмерного антитела, в PBS с 0,05% поверхностно-активным веществом TWEEN-20™ (PBST) при 25 °C при скорости потока приблизительно 25 мкл/мин. Скорости ассоциации ( $k_{on}$ ) и скорости диссоциации ( $k_{off}$ ) рассчитывают с помощью простой взаимно-однозначной модели связывания Ленгмюра (программное обеспечение BIACORE® Evaluation, версия 3.2) путем одновременной аппроксимации сенсограмм ассоциации и диссоциации. Равновесную константу диссоциации ( $K_D$ ) рассчитывают как отношение  $k_{off}/k_{on}$ . См., например, Chen et al., 1999, J. Mol. Biol. 293:865-881. Если скорость ассоциации превышает  $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  согласно данным вышеописанного поверхностного плазмонного резонанса, то скорость ассоциации можно определить при помощи метода затухания флуоресценции, при котором измеряют повышение или снижение интенсивности флуоресценции (возбуждение=295 нм;

испускание=340 нм, полоса пропускания 16 нм) при 25 °С для 20 нМ антитела к антигену в PBS, pH 7,2, в присутствии увеличивающихся концентраций антигена, измеряемое при помощи спектрометра, такого как спектрофотометр с устройством остановки потока (Aviv Instruments) или спектрофотометр серии 8000 SLM-AMINCO™ (ThermoSpectronic) с перемешивающей кюветой.

В некоторых вариантах осуществления разница между указанными двумя значениями (например, значениями  $K_D$ ) составляет менее около 50%, менее около 40%, менее около 30%, менее около 20%, и/или менее около 10% в зависимости от значения для эталонного значения/значения для сравнения.

В некоторых вариантах осуществления разница между указанными двумя значениями (например, значениями  $K_D$ ) существенно отличается, например, на более около 10%, более чем около 20%, более чем около 30%, более чем около 40% и/или более чем около 50% в зависимости от значения для эталонной молекулы/молекулы для сравнения.

«Поверхностный плазмонный резонанс» обозначает оптическое явление, которое позволяет анализировать биоспецифические взаимодействия в реальном времени путем обнаружения изменений концентрации белка в матрице биосенсора, например, с использованием системы VIAcore™ (VIAcore International AB, компания GE Healthcare, Упсала, Швеция и Пискатауэй, Нью-Джерси). Для дополнительных описаний см. Jonsson et al., 1993, Ann. Biol. Clin. 51:19-26.

«Биослойная интерферометрия» относится к оптическому аналитическому способу, который анализирует интерферограмму света, отраженного от слоя иммобилизованного белка на наконечнике биосенсора и внутреннем слое сравнения. Изменения в количестве молекул, связанных с наконечником биосенсора, вызывают сдвиги в интерферограмме, которые могут быть измерены в режиме реального времени. Неограничивающим примером устройства для биослойной интерферометрии является система FORTEBIO® OCTET® RED96 (Pall Corporation). См., например, Abdiche et al., 2008, Anal. Biochem. 377: 209-277.

В контексте данного документа термин « $k_{on}$ » относится к константе скорости ассоциации антитела с антигеном. В частности, константы скорости ( $k_{on}$  и  $k_{off}$ ) и равновесную константу диссоциации ( $K_D$ ) измеряют с использованием IgG (двухвалентных) с одновалентным антигеном (например, антигеном LILRB2). « $K_{on}$ », « $k_{on}$ », «константа скорости ассоциации» или « $k_a$ » используются в данном документе взаимозаменяемо. Значение указывает на скорость связывания связывающего белка с его целевым антигеном или скорость образования комплекса между антителом и антигеном, представленную уравнением:



В контексте данного документа термин « $k_{off}$ » относится к константе скорости диссоциации антитела из комплекса антитело/антиген.  $k_{off}$  также обозначают как « $K_{off}$ » или «константа скорости диссоциации». Это значение указывает на скорость диссоциации

антитела от его целевого антигена или разделения комплекса Ат-Аг с течением времени на свободные антитело и антиген, как показано уравнением:

$$Am + Az \rightleftharpoons Am-Az.$$

Термин «биологическая активность» относится к любому одному или более биологическим свойствам молекулы (независимо от того, присутствуют ли они естественным образом, как они обнаружены *in vivo*, или предложены или включены при помощи рекомбинантных способов). Биологические свойства включают, но не ограничиваются ими, связывание рецептора, индукцию пролиферации клеток, ингибирование роста клеток, индукцию созревания или активации (например, созревание или активацию миелоидных клеток), ингибирование созревания или активации (например, созревание или активацию миелоидных клеток), индукцию экспрессии или секреции цитокинов (например, воспалительных цитокинов или иммуносупрессивных цитокинов), индукцию апоптоза и ферментативной активности. В некоторых вариантах осуществления биологическая активность белка LLRB2 включает, например, превращение M2-подобных макрофагов в M1-подобные макрофаги.

В контексте данного документа «M2-подобный макрофаг» относится к макрофагу, который характеризуется одной или более иммуносупрессивными характеристиками, относительно эталона. Иммуносупрессивные характеристики включают сниженную экспрессию маркера созревания или маркера активации (например, снижение экспрессии одного или более костимулирующих маркеров (например, CD80 или CD86), сниженную презентацию антигена (например, посредством экспрессии HLA), сниженную экспрессию воспалительных цитокинов (например, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 или ИЛ-1 $\beta$ ), а также повышенную экспрессию регуляторного или супрессорного маркера (например, повышенную экспрессию или секрецию ИЛ-10 или CCL-2). Иммуносупрессивные характеристики могут дополнительно или альтернативно характеризоваться снижением иммуногенной или воспалительной экспрессии генов или увеличением иммуносупрессивной или иммунорегуляторной экспрессии генов в соответствии со способами, известными в данной области техники. Иммуносупрессивные характеристики могут дополнительно или альтернативно характеризоваться одним или более функциональными качествами, такими как способность ингибировать активацию и/или размножение других иммунных клеток. Анализы, подходящие для идентификации макрофагов как M2-подобных макрофагов, известны в данной области техники и описаны в данном документе. Например, анализ первичных макрофагов человека можно использовать для определения того, является ли макрофаг M2-подобным макрофагом или M1-подобным макрофагом. В некоторых случаях M2-подобный макрофаг представляет собой ассоциированный с опухолью макрофаг. В контексте определения того, является ли макрофаг M2-подобным макрофагом, эталон может представлять собой контрольный макрофаг того же или другого происхождения (например, необработанный контроль или обработанный ЛПС контроль). В вариантах осуществления, в которых потенциальный макрофаг представляет собой ассоциированный с опухолью макрофаг контроль может представлять собой

макрофаг, не ассоциированный с опухолью (например, от здорового донора). Альтернативно, эталон может представлять собой предварительно определенное пороговое значение, например, параметр, полученный из известного в данной области техники порога иммуносупрессивной характеристики.

В контексте данного документа термин «M1-подобный макрофаг» относится к макрофагу, характеризующемуся одной или более иммуногенными (например, иммуностимулирующими или активирующими) характеристиками относительно эталона. Иммуногенные характеристики включают повышенную экспрессию маркера созревания или активации (например, повышенную экспрессию одного или более костимулирующих маркеров (например, CD80 или CD86), повышенную презентацию антигена (например, посредством экспрессии HLA), повышенную экспрессию активирующих цитокинов (например, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 или ИЛ-1 $\beta$ ), сниженную экспрессию регуляторного или супрессивного маркера (например, сниженную экспрессию или секрецию ИЛ-10 или CCL-2). Иммуногенные характеристики могут дополнительно или альтернативно характеризоваться увеличением иммуногенной или воспалительной экспрессии генов или снижением иммуносупрессивной или иммунорегуляторной экспрессии генов в соответствии со способами, известными в данной области техники. Иммуногенные характеристики могут дополнительно или альтернативно характеризоваться одним или более функциональными качествами, такими как способность активировать и/или размножать другие иммунные клетки. Анализы, подходящие для идентификации макрофагов как M1-подобных макрофагов, известны в данной области техники и описаны в данном документе. Например, анализ первичных макрофагов человека можно использовать для определения того, является ли макрофаг M2-подобным макрофагом или M1-подобным макрофагом. В некоторых случаях M1-подобный макрофаг представляет собой ассоциированный с опухолью макрофаг (например, ассоциированный с опухолью макрофаг, который подвергался воздействию антитела к LILRB2). В контексте определения того, является ли макрофаг M1-подобным макрофагом, эталон может представлять собой контрольный макрофаг того же или другого происхождения (например, необработанный контроль или иммуносупрессивный контроль). В вариантах осуществления, в которых потенциальный макрофаг представляет собой ассоциированный с опухолью макрофаг контроль может представлять собой макрофаг, не ассоциированный с опухолью (например, от здорового донора). Альтернативно, эталон может представлять собой предварительно определенное пороговое значение, например, параметр, полученный из известного в данной области техники порога иммуногенной характеристики.

«Преобразование M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг» может быть идентифицировано при обнаружении увеличения любой одной или более характеристик M1-подобного макрофага, уменьшения любой одной или более характеристик M2-подобного макрофага или любой их комбинации.

В контексте данного документа термин «человеческий макрофаг моноцитарного

происхождения», «дифференцированный из моноцита человеческий макрофаг» или «HMDM» относится к макрофагу, который был получен из первичного моноцита человека. В некоторых вариантах осуществления первичный человеческий макрофаг получают из моноцитов цельной крови (например, из популяции МКПК). В некоторых вариантах осуществления первичные человеческие моноциты инкубируют в присутствии М-КСФ (макрофагальный колониестимулирующий фактор) в течение семи суток. Человеческий макрофаг моноцитарного происхождения может быть получен с использованием способов, описанных в Примере 6.

Используемый в данном документе термин «анализ блокирования тетрамера» относится к анализу, включающему следующие стадии:

(1) высевания  $1 \times 10^5$  макрофагов (например, дифференцированные из моноцитов человеческие макрофаги (HMDM)) в лунку круглодонного 96-луночного планшета для тканевых культур;

(2) добавления 50 мкл тестируемого антитела (например, антитела против LILRB2 или изотипического контроля) в буфер (например, буфер для FACS (1xDPBS, содержащий 2% HI-FBS (Sigma) + 0,05% азида натрия));

(3) инкубации 30 минут при 4 °C;

(4) промывки клеток в буфере (например, буфере для FACS) и ресуспендирования в 50 мкл буфера (например, буфера для FACS), содержащем 1 мкг/мл тетрамера (например, тетрамера, меченного флуорохромом, например, тетрамера HLA-G или HLA-A2);

(5) инкубации в защищенном от света месте в течение 30-60 минут при 4 °C;

(6) промывки клетки в буфере (например, в буфере для FACS); и

(7) количественного определения связывания тетрамера (например, с использованием проточной цитометрии).

В контексте данного документа термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором фрагмент тяжелой и/или легкой цепи получен из конкретного источника или вида, в то время как по меньшей мере часть остатка тяжелой и/или легкой цепи получены из другого источника или вида. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну переменную область от первого вида (такого как мышь, крыса, яванский макак и т.д.) и по меньшей мере одну константную область от второго вида (такого как человек, яванский макак и т.д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область мыши и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область яванского макака и по меньшей мере константную область человека. В некоторых вариантах осуществления все переменные области химерного антитела относятся к первому виду, а все константные области химерного антитела относятся ко второму виду. Химерная конструкция также может представлять собой функциональный фрагмент, как отмечено выше.

В контексте данного документа термин «гуманизированное антитело» относится к антителу, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области нечеловеческой вариабельной области была заменена соответствующей аминокислотой из вариабельной области человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере одну человеческую константную область или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fab, scFv, (Fab')<sub>2</sub> и т.д. Термин «гуманизированный» также обозначает формы нечеловеческих (например, мышинных) антител, которые представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность нечеловеческого иммуноглобулина. Гуманизированные антитела могут включать человеческие иммуноглобулины (реципиентное антитело), в которых остатки из определяющей комплементарности области (CDR) реципиента заменены остатками из CDR видов, отличных от человека (донорское антитело), таких как мышь, крыса или кролик, имеющих желаемую специфичность, аффинность и функциональную возможность. В некоторых случаях остатки каркасной области (FR) человеческого иммуноглобулина заменены соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Более того, гуманизированное антитело может содержать остатки, которые не обнаружены ни в реципиентном антителе, ни в импортированных CDR или каркасных последовательностях, но включены для дальнейшего улучшения и оптимизации эффективности антител. В общем, гуманизированное антитело может содержать по существу все из по меньшей мере одного и, как правило, двух вариабельных доменов, в которых все или по существу все области CDR соответствуют доменам иммуноглобулина, не относящегося к человеку, и все или по существу все области FR являются последовательностями консенсусной последовательности человеческого иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело также может содержать по меньшей мере фрагмент константной области или домена иммуноглобулина (Fc), как правило, человеческого иммуноглобулина. Другие формы гуманизированных антител имеют одну или более CDR (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 и/или CDR H3), которые изменены по отношению к исходному антителу, которые также называются одной или более CDR «полученных из» одной или более CDR из исходного антитела. Следует иметь в виду, что гуманизированная последовательность может быть идентифицирована по ее первичной последовательности и необязательно обозначает способ, с помощью которого было создано антитело.

В контексте данного документа термин «CDR-привитое антитело» относится к гуманизированному антителу, в котором одна или более определяющих комплементарности областей (CDR) первого (не принадлежащего человеку) вида, были привиты к каркасным областям (FR) второго (принадлежащего человеку) вида.

В контексте данного документа термин «человеческое антитело» охватывает

антитела, продуцируемые людьми, антитела, продуцируемые животными, отличными от человека, которые содержат гены человеческого иммуноглобулина, такими как мыши XENOMOUSE<sup>®</sup>, и антитела, выбранные с использованием методов *in vitro*, таких как фаговый дисплей (Vaughan et al., 1996, *Nat. Biotechnol.*, 14:309-314; Sheets et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, *J. Mol. Biol.*, 227:381; Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581), причем репертуар антител основан на последовательности человеческого иммуноглобулина. Термин «антитело человека» обозначает семейство последовательностей, которые являются человеческими последовательностями. Таким образом, этот термин обозначает не процесс, с помощью которого было создано антитело, а семейство соответствующих последовательностей.

«Функциональная Fc-область» обладает «эффекторной функцией» Fc-области с нативной последовательностью. Иллюстративные «эффекторные функции» включают связывание с Fc-рецептором; связывание C1q; КЗЦ; АЗКЦ; фагоцитоз; снижение количества рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора; BCR) и т. д. Для таких эффекторных функций, как правило, необходимо объединение Fc-области со связывающим доменом (например, переменным доменом антитела) и они могут быть оценены с использованием различных анализов.

«Fc-область с нативной последовательностью» содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности Fc-области, встречающейся в природе. Нативная последовательность Fc-областей человека включает нативную последовательность Fc-области IgG1 человека (аллотипы А и отличные от А); нативную последовательность Fc-области IgG2 человека; нативную последовательность Fc-области IgG3 человека; и нативную последовательность Fc-области IgG4 человека, а также существующие в природе варианты указанных последовательностей.

«Вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-области по меньшей мере одной аминокислотной модификацией. В некоторых вариантах осуществления «вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-области по меньшей мере одной аминокислотной модификацией, но при этом сохраняет по меньшей мере одну эффекторную функцию нативной последовательности Fc-области. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с нативной последовательностью Fc-области или с Fc-областью исходного полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен и, предпочтительно, от около одной до около пяти аминокислотных замен в нативной последовательности Fc-области или в последовательности Fc-области исходного полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область в данном документе будет идентична на по меньшей мере около 80% нативной последовательности Fc-области и/или с Fc-областью исходной полипептида, идентична на по меньшей мере около 90% указанной последовательности, идентична на по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около



96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98% или по меньшей мере около 99% указанной последовательности.

Термины «Fc-рецептор» или «FcR» описывают рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. В некоторых вариантах осуществления Fc $\gamma$ R представляет собой нативный FcR человека. В некоторых вариантах осуществления FcR представляет собой рецептор, который связывается с антителом IgG (гамма рецептор) и включает рецепторы подклассов Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII и Fc $\gamma$ RIII, в том числе аллельные варианты и формы данных рецепторов, которые подверглись альтернативному сплайсингу. Рецепторы Fc $\gamma$ RII включают Fc $\gamma$ RIIA («активирующий рецептор») и Fc $\gamma$ RIIB («ингибирующий рецептор»), которые содержат аналогичные аминокислотные последовательности, отличающиеся преимущественно цитоплазматическими доменами. Активирующий рецептор Fc $\gamma$ RIIA содержит в цитоплазматическом домене иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM). Ингибирующий рецептор Fc $\gamma$ RIIB содержит в цитоплазматическом домене иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM). См., например, Daeron, 1997, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234. FcRs рассматриваются, например, в Ravetch and Kinet, 1991, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92; Capel et al., 1994, *Immunomethods*, 4:25-34; и de Haas et al., 1995, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41. Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, включены в термин «FcR» в данном документе.

Термин «Fc-рецептор» или «FcR» также включает неонатальный рецептор, FcRn, отвечающий за перенос материнских IgG в плод (Guyer et al., 1976, *J. Immunol.* 117:587 and Kim et al., 1994, *J. Immunol.* 24:249) and regulation of homeostasis of immunoglobulins. Известны способы измерения связывания с FcRn. См., например, Ghetie and Ward, 1997, *Immunol. Today*, 18(12):592-598; Ghetie et al., 1997, *Nat. Biotechnol.*, 15(7):637-640; Hinton et al., 2004, *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216; и WO 2004/92219 (Hinton et al.).

«Эффекторные функции» относятся к биологической активности, относящейся к Fc-области антитела, которая варьируется в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают: связывание с C1q и комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ); связывание с Fc-рецептором; антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); фагоцитоз; снижение количества рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора); и активацию B-клеток.

«Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность» или «АЗКЦ» относится к форме цитотоксичности, при которой секретированный Ig, связанный с Fc-рецепторами (FcR), присутствующими на определенных цитотоксических клетках (например, NK-клетках, нейтрофилах и макрофагах), позволяет этим цитотоксическим эффекторным клеткам специфически связываться с целевой клеткой, несущей антиген, а затем убивают целевую клетку цитотоксинами. Первичные клетки для опосредования АЗКЦ, NK-клетки, экспрессируют только Fc $\gamma$ RIII, тогда как моноциты экспрессируют Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII и Fc $\gamma$ RIII. Экспрессия FcR на гемопоэтических клетках суммирована в

таблице 3 на странице 464 в Ravetch and Kinet, 1991, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92. Для оценки активности АЗКЦ представляющей интерес молекулы может быть проведен анализ АЗКЦ *in vitro*, описанный в патентах США №№ 5500362, 5821337 или 6737056 (Presta). Пригодные эффекторные клетки для таких анализов включают моноклеарные клетки периферической крови и NK-клетки. В альтернативном или дополнительном варианте активность АЗКЦ представляющей интерес молекулы можно оценить *in vivo*, например, на животной модели, как раскрыто в Clynes et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95:652-656. Дополнительные варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области (полипептиды с вариантной Fc-областью) и повышенной или пониженной активностью АЗКЦ описаны, например, в патенте США 7923538, и патенте США № 7994290.

«Комплементзависимая цитотоксичность» или «КЗЦ» относится к лизису целевой клетки в присутствии комплемента. Активация классического пути комплемента инициируется связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с антителами (соответствующего подкласса), которые связаны с их распознанным антигеном. Для оценки активации комплемента, может быть проведен анализ КЗЦ, например, как описано в Gazzano-Santoro et al., 1996, *J. Immunol. Methods* 202:163. Варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области (полипептиды с вариантной Fc-областью) и повышенной или пониженной способностью связывания C1q описаны, например, в патенте США № 6194551 B1, патенте США № 7923538, патенте США № 7994290 и WO 1999/51642. Также см., например, Idusogie et al., 2000, *J. Immunol.* 164: 4178-4184.

Вариант полипептида с «измененной» аффинностью связывания FcR или активностью АЗКЦ представляет собой вариант, который имеет или повышенную, или пониженную активность связывания FcR и/или активность АЗКЦ по сравнению с исходным полипептидом или с полипептидом, содержащим нативную последовательность Fc-области. Вариант полипептида, который «демонстрирует повышенное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с лучшей аффинностью, чем исходный полипептид. Вариант полипептида, который «демонстрирует пониженное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с более низкой аффинностью, чем исходный полипептид. Такие варианты, которые демонстрируют пониженное связывание с FcR, могут иметь незначительное или вообще не иметь заметного связывания с FcR, например, 0-20% связывание с FcR по сравнению с нативной последовательностью Fc-области IgG.

Вариант полипептида, который «опосредует антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (АЗКЦ) в присутствии эффекторных клеток человека более эффективно», чем исходное антитело, представляет собой вариант полипептида, который более эффективно опосредует АЗКЦ *in vitro* или *in vivo*, когда количества варианта полипептида и исходного антитела, применяемые в анализе, по существу одинаковы. Как правило, такие варианты будут идентифицированы с помощью анализа АЗКЦ *in vitro*, как описано в данном документе, однако рассматриваются и другие

анализы или способы для определения активности АЗКЦ, например, на животной модели и т.д.

В контексте данного документа термин «по существу аналогичный» или «по существу одинаковый» обозначает достаточно высокую степень сходства между двумя или более числовыми значениями, так что специалист в данной области техники будет рассматривать разницу между этими двумя или более значениями как малой или нулевой биологической и/или статистической значимости в контексте биологической характеристики, измеряемой указанным значением. В некоторых вариантах осуществления два или более по существу одинаковых значения отличаются не более чем на около любое из 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или 50%.

В контексте данного документа термин «существенно различающийся» обозначает достаточно высокую степень различия между двумя числовыми значениями, так что специалист в данной области техники будет считать, что различие между этими двумя значениями имеет статистическую значимость в контексте биологической характеристики, измеренной указанными значениями. В некоторых вариантах осуществления два по существу различных числовых значения отличаются более чем на около любое из 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%.

В контексте данного документа термин «существенно уменьшенный» обозначает достаточно высокую степень уменьшения между числовым значением и эталонным числовым значением, так что специалист в данной области техники будет считать разницу между этими двумя значениями статистически значимой в контексте биологической характеристики, измеряемой указанными значениями. В некоторых вариантах осуществления существенно уменьшенные числовые значения уменьшаются более чем на около любое из 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% по сравнению с эталонным значением.

Термин «лидерная последовательность» относится к последовательности аминокислотных остатков, расположенных на N-конце полипептида, которая облегчает секрецию полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может быть отщеплена при экспорте полипептида из клетки млекопитающего с образованием зрелого белка. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, и могут быть гетерологичными или гомологичными белку, к которому они присоединены.

Полипептид с «нативной последовательностью» включает полипептид, имеющий ту же аминокислотную последовательность, что и полипептид, встречающийся в природе. Таким образом, полипептид с нативной последовательностью может иметь аминокислотную последовательность природного полипептида от любого млекопитающего. Такой полипептид с нативной последовательностью может быть выделен из природного источника или может быть получен рекомбинантным или синтетическим путем. Термин полипептид с «нативной последовательностью», в

частности, охватывает природные укороченные или секретируемые формы полипептида (например, последовательность внеклеточного домена), встречающиеся в природе варианты формы (например, которые подверглись альтернативному сплайсингу) и встречающиеся в природе аллельные варианты полипептида.

«Вариант» полипептида означает биологически активный полипептид, имеющий по меньшей мере около 80% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом с нативной последовательностью после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей и без учета каких-либо консервативных замен, как часть идентичности последовательностей. Такие варианты включают, например, полипептиды, в которых один или более аминокислотных остатков добавлены или удалены на N- или C-конце полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант будет иметь по меньшей мере около 80% идентичности аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вариант будет иметь по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вариант будет идентичен на по меньшей мере около 95% аминокислотной последовательности с полипептидом с нативной последовательностью.

В контексте данного документа, термины «процент (%) идентичности аминокислотных последовательностей» и «гомология» в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела определяется как процент аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в конкретной пептидной или полипептидной последовательности после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для достижения наибольшего процента идентичности последовательности и без учета каких-либо консервативных замен за часть идентичной последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотных последовательностей может быть выполнено различными способами, известными специалисту в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN, или MEGALIGN<sup>TM</sup> (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить нужные параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

Аминокислотная замена может включать, но не ограничивается этим, замену одной аминокислоты в полипептиде другой аминокислотой. Иллюстративные замены приведены в таблице 1. Аминокислотные замены могут быть введены в представляющее интерес антитело, а полученные продукты подвергнуты скринингу на предмет выявления желаемой активности, например, сохраненного/улучшенного связывания антигена, снижения иммуногенности или оптимизированной АЗКЦ или КЗЦ.

Таблица 1.

Исходный остаток	Иллюстративные замены
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин

Аминокислоты могут быть сгруппированы в соответствии с общими свойствами боковой цепи:

- (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтрально гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислые: Asp, Glu;
- (4) основные: His, Lys, Arg;
- (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: Gly, Pro;
- (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативные замены представляют собой замену члена одного из указанных классов членом другого класса.

Термин «вектор» используется для описания полинуклеотида, который может быть сконструирован таким образом, чтобы содержать клонированный полинуклеотид или полинуклеотиды, которые могут размножаться в клетке-хозяине. Вектор может включать один или более из следующих элементов: точку начала репликации, одну или более регуляторных последовательностей (таких как, например, промоторы и/или энхансеры),

которые регулируют экспрессию представляющего интерес полипептида, и/или один или более селективируемых маркерных генов (таких как, например, гены устойчивости к антибиотикам и гены, которые могут быть использованы в колориметрических анализах, например,  $\beta$ -галактозидаза). Термин «вектор экспрессии» относится к вектору, который используется для экспрессии представляющего интерес полипептида в клетке-хозяине.

«Клетка-хозяин» относится к клетке, которая может быть или была реципиентом вектора или выделенного полинуклеотида. Клетки-хозяева могут быть прокариотическими клетками или эукариотическими клетками. Иллюстративные эукариотические клетки включают клетки млекопитающих, такие как клетки приматов или клетки животных, отличных от приматов; клетки гриба, такого как дрожжи; растительные клетки; и клетки насекомых. Неограничивающие иллюстративные клетки млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, клетки NSO, клетки PER.C6<sup>®</sup> (Crucell) и клетки 293, и CHO и их производные, например, клетки 293-6E и DG44, соответственно. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и потомство необязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или по комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке вследствие природных, случайных или умышленных мутаций. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(ами), предложенным в данном документе.

В контексте данного документа термин «выделенный» относится к молекуле, которая была отделена по меньшей мере от некоторых компонентов, с которыми она обычно встречается в природе или продуцируется. Например, полипептид называется «выделенным», когда он отделен по меньшей мере от некоторых компонентов клетки, в которой он был продуцирован. В случае, когда полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид, от клетки, которая его продуцирует, считается «выделением» полипептида. Подобным образом, полинуклеотид называют «выделенным», когда он не является частью более крупного полинуклеотида (такого как, например, геномная ДНК или митохондриальная ДНК, в случае полинуклеотида ДНК), в котором он, как правило, находится в природе, или отделен по меньшей мере от некоторых компонентов клетки, в которой он был продуцирован, например, в случае полинуклеотида РНК. Таким образом, полинуклеотид ДНК, который содержится в векторе внутри клетки-хозяина, может называться «выделенным».

Термины «индивидуум» или «субъект» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения животного; например, млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения млекопитающих, включая, но не ограничиваясь ими, людей, грызунов, обезьян, кошачьих, собак, лошадей, крупный рогатый скот, свиней, овец, коз, лабораторных животных-млекопитающих, сельскохозяйственных животных-млекопитающих, спортивных животных-млекопитающих и домашних животных-млекопитающих. В некоторых примерах «индивидуум» или «субъект» относится к индивидууму или субъекту, нуждающемуся в

лечении заболевания или расстройства. В некоторых вариантах осуществления субъект, который должен получать лечение, может представлять собой пациента, обозначая тот факт, что субъект был идентифицирован как имеющий расстройство, относящееся к лечению, или имеющий достаточный риск развития данного расстройства.

В контексте данного документа термин «заболевание» или «расстройство» относится к патологическому состоянию, при котором лечение необходимо и/или желательно.

В контексте данного документа «злокачественное новообразование» и «опухоль» являются взаимозаменяемыми терминами, которые относятся к любому аномальному росту или пролиферации клеток или тканей у животного. В контексте данного документа термины «злокачественное новообразование» и «опухоль» охватывают солидные и гематологические/лимфатические злокачественные новообразования, а также охватывают злокачественный, предзлокачественный и доброкачественный рост, такой как дисплазия. Примеры злокачественного новообразования включают, но не ограничиваясь этим, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких злокачественных новообразований включают рак почки (например, почечно-клеточный рак, например, папиллярный почечно-клеточный рак), плоскоклеточный рак, мезотелиому, тератому, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого), рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта (например, рак желудка), рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак печени, рак простаты, рак влагалища, рак щитовидной железы, тимому, рак печени, рак мозга, глиому, глиобластому, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, холангиосаркому, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому (например, увеальную меланому), феохромоцитому, параганглиому, аденокистозную карциному и различные виды злокачественных новообразований головы и шеи (например, плоскоклеточный рак головы и шеи).

В контексте данного документа термин «лечение» относится к подходу для получения благоприятных или желаемых клинических результатов. В контексте данного документа термин «лечение» охватывает любое введение или применение лекарственного средства для лечения заболевания у млекопитающего, включая человека. Для целей данного описания благоприятные или желательные клинические результаты включают, но не ограничиваются ими, одно или более из: ослабления одного или более симптомов, уменьшения степени заболевания, предотвращения или задержки распространения (например, метастазирования, например, метастазирования в легкое или в лимфатический узел) заболевания, предотвращения или задержки рецидива заболевания, задержки или замедления прогрессирования заболевания, ослабления болезненного состояния,

ингибирования заболевания или прогрессирования заболевания, ингибирования или замедления заболевания или его прогрессирования, задержки его развития и ремиссии (частичной или полной). Термин «лечение» также включает уменьшение патологических последствий пролиферативного заболевания. Способы, предложенные в данном документе, предусматривают любой один или более из этих аспектов лечения. В соответствии с вышеизложенным, термин «лечение» не требует стопроцентного устранения всех аспектов расстройства.

«Облегчение» означает уменьшение или улучшение одного или более симптомов по сравнению со случаем отсутствия введения антитела против LILRB2. «Облегчение» также включает сокращение или уменьшение продолжительности симптома.

В контексте злокачественного новообразования термин «лечение» включает любое или все из: ингибирования роста раковых клеток, ингибирования репликации раковых клеток, уменьшения общей опухолевой нагрузки и облегчение одного или более симптомов, связанных с заболеванием.

Термин «биологический образец» означает количество вещества из живого или ранее живого существа. Такие вещества включают, но не ограничиваются ими, кровь (например, цельную кровь), плазму, сыворотку, мочу, амниотическую жидкость, синовиальную жидкость, эндотелиальные клетки, лейкоциты, моноциты, другие клетки, органы, ткани, костный мозг, лимфоузлы и селезенку.

Термин «контроль» относится к композиции, которая не содержит аналит («отрицательный контроль») или которая содержит аналит («положительный контроль»). Положительный контроль может содержать известную концентрацию аналита. «Контроль», «положительный контроль» и «калибратор» могут использоваться в данном документе взаимозаменяемо для обозначения композиции, содержащей известную концентрацию аналита. «Положительный контроль» может использоваться для определения характеристик анализа и является полезным индикатором целостности реактивов (например, аналитов).

«Предварительно определенное пороговое значение» и «предварительно определенный уровень», как правило, относятся к предварительно определенному пороговому значению анализа, которое используется для оценки результатов диагностической/прогностической/терапевтической эффективности путем сравнения результатов анализа с предварительно определенным пороговым значением/уровнем, причем предварительно определенное пороговое значение/уровень уже связаны или ассоциированы с различными клиническими параметрами (например, степенью тяжести заболевания, прогрессированием, отсутствием прогрессирования, улучшением и т. д.). Хотя данное описание может обеспечить иллюстративные предварительно определенные уровни, хорошо известно, что пороговые значения могут варьироваться в зависимости от особенностей иммуноанализа (например, используемых антител и т.д.). Кроме того, специалист в данной области техники может адаптировать раскрытие, приведенное в данном документе, для других иммуноанализов для получения специфичных для



иммуноанализа пороговых значений для других иммуноанализов на основе данного описания. Принимая во внимание, что между анализами может варьироваться точное значение предварительно определенного порогового значения/уровня, корреляции, как описано в данном документе (если таковые имеются) могут быть в целом применимы.

Термины «ингибирование» или «ингибировать» относятся к уменьшению или прекращению любого фенотипического свойства или к снижению или прекращению частоты, степени или вероятности этого свойства. «Снизить» или «ингибировать» означает уменьшить, снизить или остановить активность, функцию и/или количество по сравнению с эталоном. В некоторых вариантах осуществления «снизить» или «ингибировать» означает способность вызывать общее уменьшение на 20% или более. В некоторых вариантах осуществления «снизить» или «ингибировать» означает способность вызывать общее уменьшение на 50% или более. В некоторых вариантах осуществления «снизить» или «ингибировать» означает способность вызывать общее уменьшение на 75%, 85%, 90%, 95% или более. В некоторых вариантах осуществления количество, указанное выше, ингибируется или уменьшается в течение периода времени относительно контрольной дозы (такой как плацебо) в течение того же периода времени. В контексте данного документа термин «эталон» относится к любому образцу, стандарту или уровню, которые используются для целей сравнения. Эталон может быть получен из здорового и/или непораженного образца. В некоторых примерах эталон может быть получен из необработанного образца. В некоторых примерах эталон получают от непораженного или необработанного образца индивидуума субъекта. В некоторых примерах эталон получают от одного или более здоровых индивидуумов, которые не являются субъектом или пациентом.

В контексте данного документа термин «задержка развития заболевания» означает задержку, препятствование, замедление, торможение, стабилизацию, подавление и/или отсрочку развития заболевания (такого как злокачественное новообразование). Эта задержка может быть различной продолжительности, в зависимости от истории болезни и/или индивидуума, который подлежит лечению. Как очевидно специалисту в данной области техники, достаточная или значительная задержка может, по сути, включать предотвращение, поскольку у индивидуума не развивается заболевание. Например, можно замедлить позднюю стадию злокачественного новообразования, такую как развитие метастазирования.

В контексте данного документа «предотвращение» включает обеспечение профилактических мероприятий в отношении возникновения или рецидива заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого это заболевание еще не диагностировано. Если не указано иное, термины «уменьшить», «ингибировать» или «предотвратить» не означают и не требуют полного предотвращения в течение всего времени.

В контексте данного документа «подавить» функцию или действие означает уменьшение функции или активности по сравнению с другими такими же условиями, за

исключением условия или параметра, представляющего интерес, или, альтернативно, по сравнению с другим условием. Например, антитело, которое подавляет рост опухоли, снижает скорость роста опухоли по сравнению со скоростью роста опухоли в отсутствие антитела.

«Терапевтически эффективное количество» вещества/молекулы, агониста или антагониста может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса индивидуума, а также способности вещества/молекулы, агониста или антагониста вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой количество, при котором любые токсические или вредные эффекты вещества/молекулы, агониста или антагониста перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. Терапевтически эффективное количество может быть доставлено за одно или более введений. Терапевтически эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического и/или профилактического результата.

«Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, но необязательно, поскольку профилактическая доза используется у субъектов до или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество.

Термины «фармацевтический состав» и «фармацевтическая композиция» относятся к препарату, который находится в такой форме, которая позволяет биологической активности активного ингредиента(ов) быть эффективной, и который не содержит никаких дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет вводиться этот состав. Такие составы могут быть стерильными.

«Фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному составу или носителю, общепринятому в данной области техники для применения с терапевтическим агентом, который вместе составляют «фармацевтическую композицию» для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель нетоксичен для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и совместим с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель соответствует применяемому составу.

«Стерильная» композиция является асептической или практически не содержит живых микроорганизмов и их спор.

«Препарат против PD-1» включает любую терапию, которая модулирует связывание PD-1 с PD-L1 и/или PD-L2. Препараты против PD-1 могут, например, непосредственно взаимодействовать с PD-1 и/или PD-L1. В некоторых вариантах осуществления препарат против PD-1 включает молекулу, которая непосредственно

связывается и/или влияет на активность PD-1. В некоторых вариантах осуществления препарат против PD-1 включает молекулу, которая непосредственно связывается и/или влияет на активность PD-L1. Таким образом, антитело, которое связывается с PD-1 или PD-L1 и блокирует взаимодействие PD-1 с PD-L1, представляет собой терапевтическое средство против PD-1. Когда желаемый подтип терапии препаратом против PD-1 назначен, он будет обозначаться фразой «PD-1-специфичный» в отношении терапии, включающей молекулу, которая непосредственно взаимодействует с PD-1, или «PD-L1-специфичный» в отношении молекулы, которая при необходимости напрямую взаимодействует с PD-L1. Если не указано иное, вся информация, содержащаяся в данном документе в отношении препарата против PD-1, применяется к препарату против PD-1 в целом, а также к PD-1-специфическим и/или PD-L1-специфическим препаратам. Неограничивающие иллюстративные препараты против PD-1 включают ниволумаб (BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538); пидилизумаб, ламбролизумаб/пембролизумаб (KEYTRUDA<sup>®</sup>, МК-3475); дурвалумаб; RG-7446; MSB-0010718C; AMP-224; BMS-936559 (антитело против PD-L1); AMP-514; MDX-1105; АНБ-011; анти-LAG-3/PD-1; анти-PD-1 Ат (CoStim); анти-PD-1 Ат (Kadmon Pharm.); анти-PD-1 Ат (Immunovo); анти-TIM-3/PD-1 Ат (AnaptysBio); анти-PD-L1 Ат (CoStim/Novartis); MEDI-4736 (антитело против PD-L1, Medimmune/AstraZeneca); RG7446/MPDL3280A (антитело против PD-L1, Genentech/Roche); KD-033, антагонист PD-1 (Agenus); STI-A1010; STI-A1110; TMP-042; и другие антитела, которые направлены против белка программируемой смерти-1 (PD-1) или лиганда 1 белка программируемой смерти (PD-L1).

Введение «в комбинации с» одним или более дополнительными терапевтическими агентами включает одновременное (совместное) и последующее или последовательное введение в любом порядке.

Термин «одновременно» используется в данном документе для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда по меньшей мере часть введения перекрывается во времени или когда введение одного терапевтического агента происходит в течение короткого периода времени относительно введения другого терапевтического агента. Например, два или более терапевтических агента вводят с временным разделением не более чем на определенное количество минут.

Термин «последовательно» используется в данном документе для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда введение одного или более агентов продолжается после прекращения введения одного или более других агентов. Например, введение двух или более терапевтических агентов вводят с временным разделением, превышающим определенное количество минут.

В контексте данного документа термин «в комбинации с» относится к применению одного способа лечения в дополнение к другому способу лечения. Таким образом, «в комбинации с» относится к применению одного способа лечения до, во время или после применения другого способа лечения индивидуума.

Термин «листок-вкладыш» используется для обозначения инструкций, обычно

включаемых в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно использования таких терапевтических продуктов.

«Готовое изделие» представляет собой любое изделие (например, упаковку или контейнер) или набор, содержащий по меньшей мере один реагент, например, лекарственный препарат для лечения заболевания или расстройства (например, злокачественного новообразования), или зонд для специфического обнаружения биомаркера, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления готовое изделие или набор популяризируют, распространяют или продают в виде единицы для осуществления способов согласно данному документу.

Термины «метка» и «детектируемая метка» обозначают фрагмент, присоединенный к антителу или его аналиту, для осуществления детектируемой реакции (например, связывания) между членами конкретной связывающей пары. Меченый член пары специфического связывания относится к «детектируемо меченому». Таким образом, термин «меченый связывающий белок» относится к белку с введенной меткой, которая обеспечивает идентификацию связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления метка представляет собой детектируемый маркер, который может продуцировать сигнал, который можно обнаружить с помощью визуальных или инструментальных средств, например, включения радиоактивно меченой аминокислоты или присоединения к полипептиду биотинильных фрагментов, которые могут быть обнаружены с помощью меченого авидина (например, стрептавидин, содержащий флуоресцентный маркер или ферментативную активность, которая может быть обнаружена с помощью оптических или колориметрических способов). Примеры меток для полипептидов включают, но не ограничиваются ими, следующие: радиоизотопы или радионуклиды (например,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{166}\text{Ho}$  или  $^{153}\text{Sm}$ ); хромогены, флуоресцентные метки (например, FITC, родамин, лантаноидные люминофоры), ферментативные метки (например, пероксидазу хрена, люциферазу, щелочную фосфатазу); хемилюминесцентные маркеры; биотинильные группы; предварительно определенные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, последовательности пар лейциновой молнии, сайты связывания для вторичных антител, домены связывания металлов, эпитопные метки); и магнитные агенты, такие как хелаты гадолиния. Иллюстративные примеры меток, обычно используемых для иммуноанализов, включают фрагменты, которые продуцируют свет, например, соединения акридиния, и фрагменты, которые продуцируют флуоресценцию, например, флуоресцеин. В связи с этим сам фрагмент может быть недетектируемо помечен, но может стать детектируемым при реакции с еще одним фрагментом.

Термин «конъюгат» относится к антителу, которое химически связано со вторым химическим фрагментом, таким как терапевтический или цитотоксический агент. Термин «агент» включает химическое соединение, смесь химических соединений, биологическую

макромолекулу или экстракт, полученный из биологических материалов. В некоторых вариантах осуществления терапевтические или цитотоксические агенты включают, но не ограничиваются ими, коклюшный токсин, таксол, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубин, дауномицин, дигидрокси антрацин дион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромицин, и их аналоги или гомологи. При использовании в контексте иммуноанализа конъюгатное антитело может представлять собой детектируемо меченое антитело, используемое в качестве детектирующего антитела.

## **II. Антитела против LILRB2**

Предложены новые антитела, направленные против LILRB2. Антитела против LILRB2 включают, но не ограничиваются ими, гуманизированные антитела, химерные антитела, мышинные антитела, человеческие антитела и антитела, содержащие CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи, обсуждаемые в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предложено выделенное антитело, которое связывается с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления предложено моноклональное антитело, которое связывается с LILRB2.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (f) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96; (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; и (f) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109; и (f) CDR-L3, содержащей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119; и (f) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, которое конкурирует с антителом против LILRB2, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое конкурирует за связывание (то есть, перекрестно конкурирует) с любым из антител, предложенных в данном документе, может быть получено и/или использовано.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по

меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120.

В некоторых вариантах осуществления любая из шести CDR, предложенных в данном документе, может быть объединена в качестве составных частей с любой из других CDR, предложенных в данном документе, для получения в общей сложности шести CDR в конструкторе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления две CDR из первого антитела (например, CDR-H1 и CDR-H2) могут быть скомбинированы с четырьмя CDR из второго антитела (CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3). В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков в одной или более CDR могут быть заменены для получения их варианта. В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков могут быть заменены в 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 13, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (c) CDR-H3, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 14, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 13 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 14, включая посттрансляционные модификации одной или обеих



последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 53, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против

LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 54, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 53 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 54, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 53 и SEQ ID NO: 54, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности

последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 63, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 64, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 63 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 64, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 63 и SEQ ID NO: 64, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 73. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 73. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 73, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (с) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 74. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 74. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 74, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (а) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (б) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (с) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 73, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 74. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 73. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 74. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 73 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID

NO: 74, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 73 и SEQ ID NO: 74, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 83. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 83. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 83, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 84. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 84. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции

происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 84, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 83, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 84. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 83. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 84. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 83 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 84, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 83 и SEQ ID NO: 84, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей

мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против L1LRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с L1LRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против L1LRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 93, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против L1LRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против L1LRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с L1LRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против L1LRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 94, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100.

В некоторых вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах



осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 93 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 94, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 93 и SEQ ID NO: 94, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 103, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (а) CDR-H1, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит вариабельный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 104, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 103, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 104. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит

последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 103 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 104, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 103 и SEQ ID NO: 104, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 113. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 113. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 113, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 114. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ

ID NO: 114. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 114, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 113, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 114. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 113. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 114. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 113 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 114, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 113 и SEQ ID NO: 114, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну,

две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; и (f) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, которое конкурирует с антителом против LILRB2, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое конкурирует за связывание (то есть, перекрестно конкурирует) с любым из антител, предложенных в данном документе, может быть получено и/или использовано.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления любая из шести CDR, предложенных в данном документе, может быть объединена в качестве составных частей с любой из других CDR, предложенных в данном документе, для получения в общей сложности шести CDR в конструкторе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления две CDR из первого антитела (например, CDR-H1 и CDR-H2) могут быть скомбинированы с четырьмя CDR из второго антитела (CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3). В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков в одной или более CDR могут быть заменены для получения их варианта. В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков могут быть заменены в 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в

общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 3, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит варибельный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 4, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, и последовательность домена  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность,

сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 3 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 4, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и (f) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, которое конкурирует с антителом против LILRB2, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое конкурирует за связывание (то есть, перекрестно конкурирует) с любым из антител, предложенных в данном документе, может быть получено и/или использовано.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

В некоторых вариантах осуществления любая из шести CDR, предложенных в данном документе, может быть объединена в качестве составных частей с любой из других CDR, предложенных в данном документе, для получения в общей сложности шести CDR в конструкторе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления две CDR из первого антитела (например, CDR-H1 и CDR-H2) могут быть скомбинированы с четырьмя CDR из второго антитела (CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3). В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков в одной или более CDR могут быть заменены для получения их варианта. В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков могут быть заменены в 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 23, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит вариабельный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 24, включая посттрансляционные



модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 23 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 24, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; (c) CDR-H3, содержащей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; и (f) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против L1LRB2, которое конкурирует с антителом против L1LRB2, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое конкурирует за связывание (то есть, перекрестно конкурирует) с любым из антител, предложенных в данном документе, может быть получено и/или использовано.

В некоторых вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

В некоторых вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40.

В некоторых вариантах осуществления любая из шести CDR, предложенных в данном документе, может быть объединена в качестве составных частей с любой из других CDR, предложенных в данном документе, для получения в общей сложности шести CDR в конструкторе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления две CDR из первого антитела (например, CDR-H1 и CDR-H2) могут быть скомбинированы с четырьмя CDR из второго антитела (CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3). В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков в одной или более CDR могут быть заменены для получения их варианта. В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков могут быть заменены в 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR.

В конкретных вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против L1LRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с L1LRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против

LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 33, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 34, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 33, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10

аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 33 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 34, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32.

В некоторых аспектах антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46; (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47; (d) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (e) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; и (f) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, которое конкурирует с антителом против LILRB2, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое конкурирует за связывание (то есть, перекрестно конкурирует) с любым из антител, предложенных в данном документе, может быть получено и/или использовано.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR тяжелой цепи, выбранные из (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46; и (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR легкой цепи, выбранные из (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; и (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления любая из шести CDR, предложенных в данном документе, может быть объединена в качестве составных частей с любой из

других CDR, предложенных в данном документе, для получения в общей сложности шести CDR в конструкторе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления две CDR из первого антитела (например, CDR-H1 и CDR-H2) могут быть скомбинированы с четырьмя CDR из второго антитела (CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3). В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков в одной или более CDR могут быть заменены для получения их варианта. В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков могут быть заменены в 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR.

В конкретных вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 43. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 43, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_H$  содержит: (a) CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; (b) CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46; и (c) CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело против LILRB2, причем антитело содержит варибельный домен легкой цепи ( $V_L$ ), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44. В некоторых вариантах осуществления последовательность  $V_L$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 44. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 44, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления  $V_L$  содержит: (a) CDR-L1, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (b) CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; и (c) CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43, и  $V_L$ , имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44. В некоторых вариантах осуществления последовательность домена  $V_H$ , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности и последовательности домена  $V_L$ , имеющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело против LILRB2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 43. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 44. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело против LILRB2 содержит последовательность домена  $V_H$  в SEQ ID NO: 43 и последовательность домена  $V_L$  SEQ ID NO: 44, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит домен  $V_H$ , как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе, и домен  $V_L$  как в любом из вариантов осуществления, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности доменов  $V_H$  и  $V_L$  с SEQ ID NO: 43 и SEQ ID NO: 44, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит шесть CDR, как описано в любом из приведенных выше вариантов осуществления, и специфически связывается с LILRB2 (например, человеческим LILRB2). В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 содержит шесть CDR любого из вариантов осуществления, описанных выше, специфически связывается с LILRB2 и блокирует связывание HLA-G и/или HLA-A2 с LILRB2 (например, человеческим

L1LRB2). В некоторых вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит шесть CDR, как описано в любом из приведенных выше вариантов осуществления, специфически связывается с L1LRB2 (например, человеческим L1LRB2) и вызывает превращение M2-подобных макрофагов в M1-подобные макрофаги.

В некоторых вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит по меньшей мере одну тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и по меньшей мере одну легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело против L1LRB2 содержит две тяжелые цепи, причем каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и две легкие цепи, при этом каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В контексте данного документа считается, что одноцепочечный Fv (scFv) или любое другое антитело, которое содержит, например, одну полипептидную цепь, содержащую все шесть CDR (три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи), имеет тяжелую цепь и легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой область антитела против L1LRB2, которое содержит три тяжелых цепи CDR. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь представляет собой область антитела против L1LRB2, которое содержит три легких цепи CDR.

В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, которые конкурируют с предложенными в данном документе антителами против L1LRB2 за связывание с L1LRB2. В некоторых вариантах осуществления антитела перекрестно конкурируют с предложенными в данном документе антителами против L1LRB2 за связывание с эпитопом на L1LRB2.

В некоторых вариантах осуществления для идентификации моноклонального антитела, которое конкурирует с антителом против L1LRB2, описанным в данном документе, за связывание с L1LRB2 могут быть использованы конкурентные анализы. Конкурентные анализы можно использовать для определения того, связывают ли два антитела один и тот же эпитоп, распознавая идентичные или стерически перекрывающиеся эпитопы, или одно антитело конкурентно ингибирует связывание другого антитела с антигеном. В некоторых вариантах осуществления такое конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом, который связан антителом, описанным в данном документе. Иллюстративные конкурентные анализы включают, но не ограничиваются ими, стандартные анализы, такие как те, которые представлены в Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Колд Спринг Харбор, Нью-Йорк). Подробное описание иллюстративных способов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлено в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," в *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press,

Тотова, Нью-Джерси). В некоторых вариантах осуществления два антитела связываются с одним и тем же эпитопом, если каждое блокирует связывание другого на 50% или более. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое конкурирует с антителом против LILRB2, описанным в данном документе, представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с химерным, гуманизированным или человеческим антителом против LILRB2, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, которые связываются с любым одним или более эпитопами антител, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, которые связывают и перекрывают эпитоп, с которым связываются данные антитела. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с по меньшей мере одним из антител, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с по меньшей мере двумя из антител, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с по меньшей мере тремя из антител, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с перекрывающимся эпитопом в качестве антитела, описанного в приведенных в данном документе примерах. В некоторых вариантах осуществления весь эпитоп связан и/или заблокирован конкурирующим антителом. В некоторых вариантах осуществления часть эпитопа связана и/или заблокирована конкурирующим антителом. В некоторых вариантах осуществления конкурирующий паратоп антитела связывается с по меньшей мере частью эпитопа антитела, предложенного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления паратоп конкурирующего антитела связывается с мишенью, а другой участок структуры конкурирующего антитела блокирует по меньшей мере часть эпитопа антитела, предложенного в данном документе.

#### Иллюстративные химерные антитела

В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, представляет собой химерное антитело. Некоторые химерные антитела описаны, например, в патенте США № 4816567; и Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855. В одном примере химерное антитело содержит переменную область нечеловеческого происхождения (например, переменную область, полученную от мыши, крысы, хомяка, кролика или примата, отличного от человека, такого как обезьяна) и человеческую константную область. В дополнительном примере химерное антитело представляет собой антитело с «переключенным классом», в котором класс или подкласс был изменен по сравнению с исходным антителом. Термин «химерные антитела» включает антигенсвязывающие фрагменты таких антител.

Неограничивающие иллюстративные химерные антитела включают химерные антитела, содержащие переменные области тяжелой и/или легкой цепи любого из антител против LILRB2, описанных в данном документе. Неограничивающие



иллюстративные химерные антитела включают химерные антитела, содержащие CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 и/или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 любого из антител против LILRB2, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против LILRB2 содержит переменные области, описанные выше, и связывается с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против LILRB2 содержит переменные области, описанные выше, связывается с LILRB2 и вызывает превращение M2-подобных макрофагов в M1-подобные макрофаги.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность переменной области, которая имеет 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 и 113, причем антитело связывается с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против LILRB2 содержит легкую цепь, содержащую последовательность переменной области, которая имеет 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 и 114, причем антитело связывается с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность переменной области, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 и 113; и легкую цепь, содержащую последовательность переменной области, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 и 114; причем антитело связывается с LILRB2.

Иллюстративные химерные антитела против LILRB2 также включают химерные антитела, которые конкурируют за связывание с LILRB2 с антителом или его фрагментом, описанным в данном документе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложено химерное антитело против LILRB2, которое конкурирует за связывание с LILRB2 с любым из антител против LILRB2, описанных в данном документе, или их фрагментов. В некоторых вариантах осуществления антитело конкурирует за связывание с LILRB2 и вызывает превращение M2-подобных макрофагов в M1-подобные макрофаги.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в данном

документе, содержит одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из  $\kappa$  и  $\lambda$ . В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в данном документе, содержит человеческую константную область IgG. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в данном документе, содержит человеческую константную область тяжелой цепи IgG4. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в данном документе, содержит человеческую константную область IgG4 и человеческую легкую цепь  $\kappa$ .

Как отмечено выше, необходима ли эффекторная функция или нет, может зависеть от конкретного способа лечения, выбранного для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают химерное антитело против LILRB2, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG1 или константную область тяжелой цепи человеческого IgG3. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция нежелательна, выбирают химерное антитело против LILRB2, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2.

#### Иллюстративные гуманизированные антитела

В некоторых вариантах осуществления предложено гуманизированные антитела, которые связывают LILRB2. Гуманизированные антитела полезны в качестве терапевтических молекул, потому что гуманизированные антитела уменьшают или устраняют иммунный ответ человека по сравнению с антителами нечеловеческого происхождения, что может приводить к иммунному ответу на терапевтическое средство на основе антитела (такому как ответ на человеческое антимиоминое антитело (НАМА)) и сниженной эффективности терапевтического средства.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело представляет собой гуманизированное антитело. Как правило, нечеловеческое антитело гуманизируют для снижения иммуногенности для людей, сохраняя при этом специфичность и аффинность исходного нечеловеческого антитела. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более переменных доменов, в которых CDR (или их части) получают из нечеловеческого антитела, а FR (или их части) получают из последовательностей человеческих антител. Гуманизированное антитело необязательно также будет содержать по меньшей мере часть человеческой константной области. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR гуманизированного антитела заменены соответствующими остатками из нечеловеческого антитела (например, антитела, из которого получены остатки CDR), например, для восстановления или улучшения специфичности антитела или аффинности.

Гуманизированные антитела и способы их получения рассмотрены, например, в Almagro and Fransson, 2008, *Front. Biosci.*, 13: 1619-1633, и дополнительно описаны,

например, в Riechmann et al., 1988, *Nature*, 332:323-329; Queen et al., 1989, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 86: 10029-10033; патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321, и 7087409; Kashmiri et al., 2005, *Methods*, 36:25-34; Padlan, 1991, *Mol. Immunol.*, 28:489-498 (где описано «изменение поверхности»); Dall'Acqua et al., 2005, *Methods*, 36:43-60 (где описана «перетасовка FR»); и Osbourn et al., 2005, *Methods*, 36:61-68 и Klimka et al., 2000, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (где описан подход «направленного отбора» к перетасовке FR).

Человеческие каркасные области, которые можно использовать для гуманизации, включают, но не ограничиваются ими: каркасные области, выбранные с использованием метода «наилучшего соответствия» (см., например, Sims et al., 1993, *J. Immunol.* 151:2296); каркасные области, полученные из консенсусной последовательности человеческих антител определенной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепи (см., например, Carter et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; и Presta et al., 1993, *J. Immunol.*, 151:2623); зрелые человеческие каркасные области человека (содержащие соматические мутации) или каркасные области зародышевой линии человека (см., например, Almagro and Fransson, 2008, *Front. Biosci.*, 13:1619-1633); и каркасные области, полученные из скрининга библиотек FR (см., например, Vasa et al., 1997, *J. Biol. Chem.*, 272: 10678-10684 и Rosok et al., 1996, *J. Biol. Chem.*, 271:22611-22618).

Неограничивающие иллюстративные гуманизированные антитела включают антитела, содержащие домен  $V_H$ , выбранный из SEQ ID NO: 53, 63, 73, 83, 93, 103 и 113, и/или домен  $V_L$ , выбранный из SEQ ID NO: 54, 64, 74, 84, 94, 104 и 114 или из их любой одной, двух, трех, четырех, пяти или шести CDR. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против LILRB2 содержит CDR, описанные выше, и связывается с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против LILRB2 содержит CDR, описанные выше, связывается с LILRB2 и вызывает превращение M2-подобных макрофагов в M1-подобные макрофаги.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая имеет 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 53, 63, 73, 83, 93, 103 и 113, причем антитело связывается с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против LILRB2 содержит легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая имеет 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 54, 64, 74, 84, 94, 104 и 114, причем антитело связывается с LILRB2. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против LILRB2 содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая имеет по меньшей мере 90%, по

меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95% , по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 53, 63, 73, 83, 93 и 113, и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 54, 64, 74, 84, 94, 104 и 114, причем антитело связывается с LILRB2.

В некоторых вариантах осуществления любая одна или более последовательностей CDR, предложенных в данном документе, сохраняются, в то время как оставшаяся область тяжелой и/или легкой цепи (то есть FR1, FR2, FR3 и FR4) имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 53, 54, 63, 64, 73, 74, 83, 84, 93, 94, 103, 104, 113, и 114.

В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну из CDR, обсуждаемых в данном документе. То есть в некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR-H1, обсуждаемой в данном документе, CDR-H2, обсуждаемой в данном документе, CDR-H3, обсуждаемой в данном документе, CDR-L1, обсуждаемой в данном документе, CDR -L2, обсуждаемой в данном документе, и CDR-L3, обсуждаемой в данном документе. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против LILRB2 содержит по меньшей мере одну мутированную CDR на основе CDR, обсуждаемой в данном документе, причем мутированная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 аминокислотные замены относительно CDR, обсуждаемой в данном документе. В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен представляют собой консервативные аминокислотные замены. Специалист в данной области техники может выбрать одну или более подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, причем подходящие консервативные аминокислотные замены не прогнозируют значительного изменения свойств связывания антитела, содержащего мутированную CDR.

Иллюстративные гуманизованные антитела против LILRB2 также включают антитела, которые конкурируют за связывание с LILRB2 с антителом или его фрагментом, описанными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предложено гуманизованное антитело против LILRB2, которое конкурирует за связывание с LILRB2 с любым антителом против LILRB2, описанным в данном документе, или его фрагментом и вызывает превращение M2-подобных макрофагов в M1-подобные макрофаги.

Иллюстративные человеческие антитела

В некоторых вариантах осуществления антитело против LLRB2, предложенное в данном документе, представляет собой человеческое антитело. Человеческие антитела могут быть получены с использованием различных методик, известных в данной области техники. Человеческие антитела описаны в общих чертах в van Dijk and van de Winkel, 2001, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5:368-374 и Lonberg, 2008, *Curr. Opin. Immunol.*, 20:450-459. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело не является природным антителом. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело представляет собой моноклональное антитело; таким образом, в некоторых вариантах осуществления каждое из человеческих антител в наборе может связываться с одним и тем же эпитопом на антигене.

Человеческие антитела можно получить путем введения иммуногена трансгенному животному, модифицированному с целью продукции интактных человеческих антител или интактных антител с человеческими вариабельными областями в ответ на антигенную стимуляцию. Такие животные, как правило, содержат все или часть локусов иммуноглобулина человека, которые замещают эндогенные локусы иммуноглобулина или которые находятся во внехромосомном пространстве или случайным образом интегрированы в хромосомы животного. Как правило, у таких трансгенных мышей инактивированы эндогенные локусы иммуноглобулинов. Обзор способов получения антител человека из трансгенных животных см. в Lonberg, 2005, *Nat. Biotech.*, 23: 1117-1125. Также см., например, патенты США №№ 6075181 и 6150584, в которых описана технология XENOMOUSE™; патент США № 5770429, где описана технология HUMAB®; патент США № 7041870, в котором описана технология K-M MOUSE®, и публикацию патентной заявки США № US 2007/0061900, в которой описана технология VELOCIMOUSE®). Человеческие вариабельные области из интактных антител, образованных такими животными, могут дополнительно модифицироваться, например, путем объединения с разными человеческими консервативными областями.

Человеческие антитела также можно получать при помощи способов на основе гибридом. Были описаны клеточные линии человеческой миеломы и мышино-человеческой гетеромиеломы для получения человеческих моноклональных антител. См., например, Kozbor, 1984, *J. Immunol.*, 133: 3001; Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); и Voerner et al., 1991, *J. Immunol.*, 147:86). Человеческие антитела, полученные с использованием технологии человеческой B-клеточной гибридомы, описаны в Li et al., 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562. Дополнительные способы включают способы, описанные, например, в патенте США № 7189826 (где описано получение моноклональных антител IgM человека из гибридомных клеточных линий) и в статье Ni, 2006, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (в которой описаны гибридомы типа человек-человек). Технология с использованием человеческих гибридом (технология «Триома») также описана в Vollmers and Brandlein, 2005, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 and Vollmers and Brandlein, 2005, *Methods and Findings in Experimental and Clinical*

Pharmacology, 27(3): 185-191.

Человеческие антитела также можно получать путем выделения последовательностей варибельного домена клона Fv из библиотек фагового дисплея человеческого происхождения. Такие последовательности варибельного домена можно затем объединять с требуемым константным доменом человека. Методики отбора человеческих антител из библиотек антител описаны ниже.

Антитела могут быть выделены путем скрининга комбинаторных библиотек антител с необходимой активностью или свойствами. Например, в данной области техники известно множество способов получения библиотек фагового дисплея и скрининга таких библиотек в отношении антител, обладающих необходимыми связывающими характеристиками. Такие методы рассмотрены, например, в Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) и дополнительно описаны, например, в McCafferty et al., 1990, *Nature* 348:552-554; Clackson et al., 1991, *Nature*, 352: 624-628; Marks et al., 1992, *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597; Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., 2004 *J. Mol. Biol.*, 338(2): 299-310; Lee et al., 2004, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093; Fellouse, 2004, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(34): 12467-12472; и Lee et al., 2004, *J. Immunol. Methods*, 284(1-2): 119-132 и публикации PCT WO 99/10494.

В некоторых методах фагового дисплея репертуары генов V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> отдельно клонируют при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) и повторно комбинируют случайным образом в фаговых библиотеках, которые затем можно подвергнуть скринингу на антигенсвязывающий фаг, как описано в Winter et al., 1994, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455. Фаг, как правило, представляет фрагменты антител, как одноцепочечные фрагменты Fv (scFv), так и фрагменты Fab. Библиотеки из иммунизированных источников позволяют получить антитела с высокой аффинностью к иммуногену без необходимости конструирования гибридом. В качестве альтернативы, можно клонировать наивный репертуар (например, от человека) для получения единого источника антител к широкому спектру чужеродных антигенов и аутоантигенов без иммунизации, как описано в статье Griffiths et al., 1993, *EMBO J*, 12:725-734. Наконец, наивные библиотеки можно также получить путем синтеза, клонируя сегменты V-генов стволовых клеток, не подвергавшиеся реаранжировке, и используя ПЦР-праймеры, содержащие случайные последовательности, для кодирования гиперварибельных областей CDR3 и осуществления реаранжировки *in vitro*, как описано в статье Hoogenboom and Winter 1992, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388. Патентные публикации, в которых описаны фаговые библиотеки человеческих антител, включают, например: патент США № 5750373 и патентные публикации США №№ 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, и 2009/0002360.

В некоторых вариантах осуществления предложено химерное человеческое антитело против LILRB2, причем антитело содержит варибельную область из человеческого антитела, которая связывает LILRB2, и константную область из другого

человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления предложено химерное человеческое антитело против LILRB2, причем антитело содержит CDR человеческого антитела, которое связывает LILRB2, и каркасную область из другого человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело не является природным человеческим антителом.

В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело против LILRB2 содержит одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из  $\kappa$  и  $\lambda$ . В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в данном документе, содержит человеческую константную область IgG. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в данном документе, содержит человеческую константную область тяжелой цепи IgG4. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в данном документе, содержит человеческую константную область IgG4 и человеческую легкую цепь  $\kappa$ .

В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают человеческое антитело против LILRB2, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG1 или константную область тяжелой цепи человеческого IgG3. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция нежелательна, выбирают человеческое антитело против LILRB2, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2.

Как отмечено в данном документе, термин «человеческое антитело» обозначает тип возможных последовательностей для конструкции антитела, а не источник антитела.

#### Иллюстративные константные области антител

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из  $\kappa$  и  $\lambda$ . В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константную область человеческого IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константную область тяжелой цепи человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит человеческую константную область IgG4 и человеческую легкую цепь  $\kappa$ .

В данном описании и формуле изобретения, если явно не указано или не известно специалисту в данной области, нумерация остатков в тяжелой цепи иммуноглобулина соответствует индексу EU как в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), которая специально включено в данный документ посредством ссылки. «Индекс EU в

соответствии с Кабат» относится к нумерации остатков EU человеческого антитела IgG1.

Как отмечено выше, необходима ли эффекторная функция или нет, может зависеть от конкретного способа лечения, выбранного для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают антитело против LILRB2, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG1 или константную область тяжелой цепи человеческого IgG3. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция нежелательна, выбирают антитело против LILRB2, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариант Fc-области, имеющей по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с Fc-областью IgG дикого типа или антитела дикого типа. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области имеет две или более аминокислотных замен в Fc-области антитела дикого типа. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области имеет три или более аминокислотных замен в Fc-области антитела дикого типа. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области имеет по меньшей мере одну, две или три или более аминокислотных замен Fc-области, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области в данном документе будет иметь по меньшей мере около 80% гомологию с Fc-областью с нативной последовательностью и/или с Fc-областью исходного полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области в данном документе будет иметь по меньшей мере около 90% гомологию с Fc-областью с нативной последовательностью и/или с Fc-областью исходного полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области в данном документе будет иметь по меньшей мере около 95% гомологию с Fc-областью с нативной последовательностью и/или с Fc-областью исходного полипептида.

В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, изменяется для увеличения или уменьшения степени гликозилирования антитела. Добавление или удаление сайтов гликозилирования к антителу может быть удобно осуществлено путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, что один или более сайтов гликозилирования создаются или удаляются.

Если антитело содержит Fc-область, то можно изменять присоединенный к ней углевод. Нативные антитела, продуцируемые клетками млекопитающих, как правило, содержат разветвленный, биантеннальный олигосахарид, который в общем случае присоединен посредством N-связи к Asn297 домена CH2 Fc-области. См., например, Wright et al., 1997, TIBTECH, 15:26-32. Олигосахарид может содержать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стволе» биантеннальной олигосахаридной структуры. В некоторых вариантах осуществления можно выполнить модификации олигосахарида в антителе с целью создания вариантов антител с определенными улучшенными свойствами.

В некоторых вариантах осуществления предложены варианты антител, в которых



углеводная структура, присоединенная (или непосредственно, или опосредованно) к Fc-области, имеет сниженное содержание фукозы. Например, количество фукозы в таком антителе может составлять от 1% до 80%, от 1% до 65%, от 5% до 65% или от 20% до 40%. Количество фукозы определяют, рассчитывая среднее количество фукозы в сахарной цепи Asn297 относительно общего количества гликоструктур, присоединенных к Asn 297 (например, комплексных, гибридных или содержащих большое количество маннозы структур), согласно данным масс-спектрометрии MALDI-TOF, как описано, например, в WO 2008/077546. Asn297 относится к остатку аспарагина, расположенному в положении 297 в области Fc (согласно нумерации EU остатков Fc-области); при этом Asn297 также может быть расположен на около  $\pm 3$  аминокислот выше или ниже положения 297, т.е. между положениями 294 и 300, вследствие незначительных вариаций последовательностей в антителах. Такие фукозилированные варианты могут обладать улучшенной функцией АЗКЦ. См., например, патентные публикации США № U.S. 2003/0157108 (Presta, L.); U.S. 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Примеры публикаций, связанных с «дефукозилированными» или «фукозодефицитными» вариантами антитела включают: U.S. 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; U.S. 2003/0115614; U.S. 2002/0164328; U.S. 2004/0093621; U.S. 2004/0132140; U.S. 2004/0110704; U.S. 2004/0110282; U.S. 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al., 2004, Biotech. Bioeng. 87: 614. Примеры линий клеток, способных продуцировать дефукозилированные антитела, включают клетки CHO Lec13 с дефицитом фукозилирования белка (Ripka et al., 1986, Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545; и заявка на патент США № U.S. 2003/0157108 A1 (Presta, L); и WO 2004/056312 A1, (Adams et al., особенно в Примере 11), и нокаутные линии клеток, такие как клетки CHO, нокаутные по гену альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8, (см., например, Yamane-Ohnuki et al., 2004, Biotech. Bioeng. 87: 614; Kanda, Y. et al., 2006, Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688; и WO 2003/085107).

Кроме того, предложены варианты антител с олигосахаридами, разделенными пополам, например, в которых биантенный олигосахарид, присоединенный к Fc-области антитела, разделен пополам с помощью GlcNAc. Такие варианты антител могут обладать сниженным уровнем фукозилирования и/или улучшенной функцией АЗКЦ. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патенте США № U.S. 6602684 (Umana et al.); и U.S. 2005/0123546 (Umana et al.). Кроме того, предложены варианты антител, содержащие по меньшей мере один остаток галактозы в составе олигосахаарида, присоединенного к области Fc. Такие варианты антител могут обладать улучшенной функцией КЗЦ. Такие варианты антител описаны, например, в WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

Также предложены варианты антител с N-концевыми лидерными удлинениями. Например, один или более аминокислотных остатков N-концевой лидерной

последовательности присутствуют на N-конце любой одной или более тяжелых или легких цепей антитела. Иллюстративное N-концевое лидерное удлинение содержит или состоит из трех аминокислотных остатков VHS, присутствующих в одной или обеих легких цепях варианта антитела.

Период полувыведения *in vivo* или из сыворотки полипептидов, связывающих с высокой аффинностью человеческий FcRn, можно проанализировать, например, у трансгенных мышей, у людей или у отличных от человека приматов, которым вводят полипептиды с вариантной Fc-областью. Также см., например, Petkova et al., 2006, *International Immunology* 18(12):1759-1769.

В некоторых вариантах осуществления вариант антитела опосредует АЗКЦ в присутствии эффекторных клеток человека более эффективно, чем исходное антитело. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела значительно более эффективен при опосредовании АЗКЦ *in vitro*, если количества варианта полипептида и исходного антитела, используемые в анализе, по существу одинаковы. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела значительно более эффективен при опосредовании АЗКЦ *in vivo*, если количества варианта полипептида и исходного антитела, используемые в анализе, по существу одинаковы. Как правило, такие варианты будут идентифицированы с помощью анализа АЗКЦ *in vitro*, как описано в данном документе, однако рассматриваются и другие анализы или способы для определения активности АЗКЦ, например, на животной модели и т.д.

#### Иллюстративные конъюгаты антител

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 конъюгировано с другой молекулой. В некоторых вариантах осуществления дополнительная молекула может представлять собой детектируемый маркер, такой как метка. В некоторых вариантах осуществления дополнительная молекула может представлять собой терапевтическую молекулу, такую как цитотоксический агент. В некоторых вариантах осуществления метка и/или цитотоксический агент могут быть конъюгированы с антителом. В контексте данного документа метка представляет собой фрагмент, который облегчает обнаружение антитела и/или облегчает обнаружение молекулы, с которой связывается антитело. Неограничивающие примеры меток включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы, флуоресцентные группы, ферментные группы, хемилюминесцентные группы, биотин, эпитопные метки, метки, связывающие металлы, и т. д. Специалист в данной области техники может выбрать подходящую метку в соответствии с предполагаемым применением.

В контексте данного документа цитотоксический агент представляет собой фрагмент, который уменьшает пролиферативную способность одной или нескольких клеток. Клетка обладает пониженной пролиферативной способностью, когда клетка становится менее способной к пролиферации, например, потому что клетка подвергается апоптозу или иным образом умирает, клетка не может пройти через клеточный цикл и/или не может делиться, клетка дифференцируется и т. д. Неограничивающие типичные

цитотоксические агенты включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы, токсины и химиотерапевтические агенты. Специалист в данной области техники может выбрать подходящий цитотоксический агент в соответствии с предполагаемым применением. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой по меньшей мере одно из антиметаболитов, алкилирующих агентов, антибиотиков, факторов роста, цитокинов, антиангиогенных агентов, антимитотических агентов, антрациклинов, токсинов или апоптотического агента

В некоторых вариантах осуществления метка и/или цитотоксический агент конъюгированы с антителом при помощи химических способов *in vitro*. Неограничивающие иллюстративные химические способы конъюгации известны в данной области техники и включают услуги, методы и/или реагенты, коммерчески доступные, например, от Thermo Scientific Life Science Research Produces (ранее Pierce; г. Рокфорд, штат Иллинойс, США), Prozyme (г. Хэйворд, Калифорния, США), SACRI Antibody Services (г. Калгари, Канада), AbD Serotec (г. Роли, штат Северная Каролина, США) и др. В некоторых вариантах осуществления, когда метка и/или цитотоксический агент представляет собой полипептид, метка и/или цитотоксический агент могут быть экспрессированы из одного вектора экспрессии вместе с по меньшей мере одной цепью антитела для получения полипептида, содержащего метку и/или цитотоксический агент, слитые с цепью антитела. Специалист в данной области техники может выбрать подходящий способ конъюгации метки и/или цитотоксического агента с антителом в соответствии с предполагаемым применением.

В некоторых вариантах осуществления конъюгация может быть ковалентной. В некоторых вариантах осуществления конъюгация может быть нековалентной. В некоторых вариантах осуществления конъюгация может осуществляться посредством специфического связывающего взаимодействия, например, посредством связывания вторичного антитела.

#### Иллюстративные лидерные последовательности

Лидерная последовательность из гетерологичного белка может быть желательна для того чтобы некоторые секретлируемые белки экспрессировались и секретировались в больших количествах. В некоторых вариантах осуществления применение гетерологичных лидерных последовательностей может быть выгодным тем, что полученный зрелый полипептид может оставаться неизменным после удаления лидерной последовательности в эндоплазматическом ретикулуме в процессе секретирования. Для экспрессии и секретирования некоторых белков может быть необходимым добавление гетерологической лидерной последовательности.

Некоторые иллюстративные последовательности лидерных последовательностей описаны, например, в онлайн базе данных Leader sequence Database, поддерживаемой Факультетом биохимии Национального Сингапурского Университета. См. Choo et al., 2005, *BMC Bioinformatics*, 6: 249; и публикации PCT № WO 2006/081430.

### **III. Активность антител**

В данном документе предложены антитела против LILRB2, которые обеспечивают специфические функциональные характеристики. В конкретных аспектах изобретения антитела против LILRB2 способствуют повышению иммуногенности (например, проявляемой M1-подобными макрофагами) в ответ на патологию, например злокачественное новообразование. Дополнительно или альтернативно, антитела против LILRB2 согласно изобретению могут ингибировать иммунорегуляторный (например, иммуносупрессивный) ответ, например, который проявляется у M2-подобных макрофагов.

Блокирование HLA-A2 может служить моделью для нарушения связывания между LILRB2 и классическими молекулами ГКГС I класса. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитела против LILRB2 блокируют связывание HLA-G или HLA-A2 с LILRB2 (например, человеческим LILRB2). Блокирование может быть обнаружено и/или определено количественно любым подходящим способом, известным в данной области техники или описанным в данном документе. Например, блокирование HLA-G или HLA-A2 может быть обнаружено и/или количественно определено с использованием анализа блокирования тетрамера (например, с использованием человеческих моноцитов), как описано, например, в Примере 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, которое блокирует связывание HLA-G с LILRB2, связывает тот же эпитоп (то есть полностью или частично) LILRB2, что и HLA-G. В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, которое блокирует связывание HLA-G с LILRB2, связывает по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь или по меньшей мере восемь остатков эпитопа LILRB2, который связан HLA-G. В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 блокирует по меньшей мере 50% (например, от 50-100%, от 55-95%, от 60-90%, от 65-85% или от 70-80%, например, от 50-60%, от 60-70%, от 70-80%, от 80-90% или от 90-100%, например, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%) тетрамера HLA-G в анализе связывания тетрамера. В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 блокирует тетрамер HLA-G при  $EC_{50}$  менее 1,0 нМ (например, менее 0,9 нМ, менее 0,8 нМ, менее 0,7 нМ, менее 0,6 нМ, менее 0,5 нМ, менее 0,4 нМ, менее 0,3 нМ, менее 0,2 нМ, менее 0,15 нМ, менее 0,14 нМ, менее 0,13 нМ, менее 0,12 нМ, менее 0,11 нМ, менее 0,1 нМ, менее 0,09 нМ, или менее 0,08 нМ) в анализе связывания тетрамера.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, которое блокирует связывание HLA-A2 с LILRB2, связывает тот же эпитоп (то есть полностью или частично) LILRB2, что и HLA-A2. В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, которое блокирует связывание HLA-A2 с LILRB2, связывает по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь или по меньшей мере

восемь остатков эпитопа LLRB2, который связан HLA-A2. В некоторых вариантах осуществления антитело против LLRB2 блокирует по меньшей мере 50% (например, от 50-100%, от 55-95%, от 60-90%, от 65-85% или от 70-80%, например, от 50-60%, от 60-70%, от 70-80%, от 80-90% или от 90-100%, например, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%) тетрамера HLA-A2 в анализе связывания тетрамера. В некоторых вариантах осуществления антитело против LLRB2 блокирует тетрамер HLA-A2 при  $EC_{50}$  менее 1,0 нМ (например, менее 0,9 нМ, менее 0,8 нМ, менее 0,7 нМ, менее 0,6 нМ, менее 0,5 нМ, менее 0,4 нМ, менее 0,3 нМ, менее 0,2 нМ, менее 0,15 нМ, менее 0,14 нМ, менее 0,13 нМ, менее 0,12 нМ, менее 0,11 нМ, менее 0,1 нМ, менее 0,09 нМ, или менее 0,08 нМ) в анализе связывания тетрамера.

В некоторых вариантах осуществления антитела против LLRB2, предложенные в данном документе, способны превращать M2-подобную популяцию макрофагов в M1-подобную популяцию макрофагов. Превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг может быть обнаружено или количественно определено с использованием любого подходящего способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе, например, анализа человеческих макрофагов моноцитарного происхождения, как описано в Примере 6, или анализа гистокультуры, как описано в Примере 13.

В некоторых вариантах осуществления превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается повышенной экспрессией одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из CXCL9, CXCL11, IRF1, TAP1, ИЛ-6R и ИЛ-15, например, повышением экспрессии на по меньшей мере 1% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, в по меньшей мере 1 раз, по меньшей мере 2 раза, по меньшей мере 3 раза, по меньшей мере 4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 10 раз, по меньшей мере 20 раз, по меньшей мере 30 раз, по меньшей мере 40 раз, по меньшей мере 50 раз, по меньшей мере 100 раз или более) любого одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из CXCL9, CXCL11, IRF1, TAP1, ИЛ-6R и ИЛ-15. В некоторых вариантах осуществления превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается сниженной экспрессией одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из CCL2, RPTN22, KLRC3, ИЛ-10, ИЛ-18R1, G6PD, CD68 и BAT3, например, снижением экспрессии на по меньшей мере 1% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или 100%) любого одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из

CCL2, PTPN22, KLRC3, ИЛ-10, ИЛ-18R1, G6PD, CD68 и BAT3.

В некоторых вариантах осуществления превращение М2-подобного макрофага в М1-подобный макрофаг отмечается повышенной экспрессией одного, двух или всех трех цитокинов, выбранных из группы, состоящей из ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, CCL3, EGR2, TRAF1, ИЛ-1A, IRAK2, ФНО-альфа, ИЛ-7R, CCL2, ИЛ-8, CCL4, CXCL1, BCL2, EGR1, ИЛ-1RN, TNFSF15, DUSP4, ICAM1, TNFAIP3, TNFRSF9, CD83, TNFAIP6, CCL20, NFKB1, TNFRSF4, CXCL2, PTGS2, NFKBIA, NFKB2, CLEC4E, NFKBIZ, CCL5, CCL7, CLEC5A, CEVBPB, TLR2, SRC, RELB, PLAUR, SOCS3, GBP1, CCL18, CSF1, CD40, NT5E, CCL23, CCL8, GBP5, ITGAX, C3, TNFSF15, ICAM5, DPP4, ZEB1, SPP1, ИЛ-23A, CD123 и ИЛ-6, например, повышением экспрессии на по меньшей мере 1% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, в по меньшей мере 1 раз, по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 2 раза, по меньшей мере 3 раза, по меньшей мере 4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 10 раз, по меньшей мере 20 раз, по меньшей мере 30 раз, по меньшей мере 40 раз, по меньшей мере 50 раз, по меньшей мере 100 раз или более) любого одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, CCL3, EGR2, TRAF1, ИЛ-1A, IRAK2, ФНО, ИЛ-7R, CCL2, ИЛ-8, CCL4, CXCL1, BCL2, EGR1, ИЛ-1RN, TNFSF15, DUSP4, ICAM1, TNFAIP3, TNFRSF9, CD83, TNFAIP6, CCL20, NFKB1, TNFRSF4, CXCL2, PTGS2, NFKBIA, NFKB2, CLEC4E, NFKBIZ, CCL5, CCL7, CLEC5A, CEVBPB, TLR2, SRC, RELB, PLAUR, SOCS3, GBP1, CCL18, CSF1, CD40, NT5E, CCL23, CCL8, GBP5, ITGAX, C3, TNFSF15, ICAM5, DPP4, ZEB1, SPP1, ИЛ-23A, CD123 и ИЛ-6. В некоторых вариантах осуществления преобразование М2-подобного макрофага в М1-подобный макрофаг обозначается сниженной экспрессией ИЛ-10, CCL2, TGFBR2, CXCL13, ИЛ-21R, CD36, CR1, C1QB и TGFBI, например, снижением экспрессии на по меньшей мере 1% (например, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 3%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или 100%) любого одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из ИЛ-10, CCL2, TGFBR2, CXCL13, ИЛ-21R, CD36, CR1, C1QB и TGFBI.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, связывается с человеческим LILRB2 с большей аффинностью, чем с любым одним или более из человеческого LILRB1, человеческого LILRB3, человеческого LILRB4, человеческого LILRB5, человеческого LILRA1, человеческого LILRA2, человеческого LILRA3, человеческого LILRA4, человеческого LILRA5 или человеческого LILRA6. В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 согласно изобретению связывается с человеческим LILRB2 с по меньшей мере в 2 раза большей

аффинностью (например, по меньшей мере 3 раза, по меньшей мере 4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 10 раз, по меньшей мере 20 раз, по меньшей мере 30 раз, по меньшей мере 40 раз, по меньшей мере 50 раз, по меньшей мере 100 раз или более большей аффинностью) по отношению к любому одному или более из человеческого LILRB1, человеческого LILRB3, человеческого LILRB4, человеческого LILRB5, человеческого LILRA1, человеческого LILRA2, человеческого LILRA3, человеческого LILRA4, человеческого LILRA5 или человеческого LILRA6. В некоторых вариантах осуществления связывание антитела против LILRB2, предложенного в данном документе, с любым одним или более из человеческого LILRB1, человеческого LILRB3, человеческого LILRB4, человеческого LILRB5, человеческого LILRA1, человеческого LILRA2, человеческого LILRA3, человеческого LILRA4, человеческого LILRA5 или человеческого LILRA6 является недетектируемым, например, при помощи биослойной интерферометрии (например, менее чем 0,08 нм по OCTET<sup>®</sup>). В некоторых вариантах осуществления  $K_D$  антитела против LILRB2, предложенного в данном документе, к любому одному или более из LILRB1, человеческого LILRB3, человеческого LILRB4, человеческого LILRB5, человеческого LILRA1, человеческого LILRA2, человеческого LILRA3, человеческого LILRA4, человеческого LILRA5 или человеческого LILRA6 составляет более 10 нМ (например, более 15 нМ, более 20 нМ, более 25 нМ, более 30 нМ, более 35 нМ, более 40 нМ, более 45 нМ, более 50 нМ, более 60 нМ, более 70 нМ, более 80 нМ, более 90 нМ, более 100 нМ, более 500 нМ, более 1 мкМ, более 10 мкМ или более 100 мкМ).

#### **IV. Экспрессия и продукция антител**

Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитела против LILRB2

В данном документе предложены молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют одну или более цепей антитела против LILRB2. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь или легкую цепь антитела против LILRB2. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит как полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, так и полинуклеотид, который кодирует легкую цепь антитела против LILRB2. В некоторых вариантах осуществления первая молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, а вторая молекула нуклеиновой кислоты содержит второй полинуклеотид, который кодирует легкую цепь.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются из одной молекулы нуклеиновой кислоты или из двух отдельных молекул нуклеиновой кислоты в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления, например, когда антитело представляет собой scFv, один полинуклеотид кодирует один полипептид, содержащий как тяжелую цепь, так и легкую цепь, связанные вместе.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь

или легкую цепь антитела против LILRB2, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует по меньшей мере одну из CDR, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела против LILRB2, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует по меньшей мере 3 из CDR, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела против LILRB2, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует по меньшей мере 6 из CDR, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела против LILRB2, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует лидерную последовательность, которая при трансляции находится на N-конце тяжелой цепи или легкой цепи. Как обсуждалось выше, лидерная последовательность может быть нативной лидерной последовательностью тяжелой или легкой цепи или может быть другой гетерологичной лидерной последовательностью.

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует любую из аминокислотных последовательностей для антител в приведенной в данном документе таблице последовательностей. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой нуклеиновую кислоту, которая на по меньшей мере 80% идентична нуклеиновой кислоте, кодирующей любую из аминокислотных последовательностей для антител в таблице последовательностей, приведенной в данном документе, например, идентична на по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой нуклеиновую кислоту, которая гибридизуется с любой одной или более последовательностями нуклеиновых кислот, предложенными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления гибридизация происходит в умеренных условиях. В некоторых вариантах осуществления гибридизация происходит в очень жестких условиях, таких как: по меньшей мере около 6X SSC и 1% SDS при 65 °C, с первой промывкой в течение 10 минут при около 42 °C с около 20% (об./об.) формамида в 0,1X SSC и с последующей промывкой 0,2X SSC и 0,1% SDS при 65 °C.

Молекулы нуклеиновой кислоты могут быть сконструированы с использованием методик рекомбинантной ДНК, известных в данной области. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты представляет собой вектор экспрессии, который подходит для экспрессии в выбранной клетке-хозяине.

#### *Векторы*

Предложены векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи антитела против LILRB2 и/или легкие цепи антитела против LILRB2. Также предложены векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи антитела против LILRB2 и/или легкие цепи антитела против LILRB2. Такие векторы включают, но не ограничиваются ими, ДНК-векторы, фаговые векторы, вирусные



векторы, ретровирусные векторы и т. д. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит первую полинуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, и вторую полинуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются из вектора в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются в виде части одного полипептида, например, как в случае, когда антитело представляет собой scFv.

В некоторых вариантах осуществления первый вектор содержит полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, а второй вектор содержит полинуклеотид, который кодирует легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления первый вектор и второй вектор трансфицируют в клетки-хозяев в сходных количествах (таких как сходные молярные количества или сходные массовые количества). В некоторых вариантах осуществления молярное или массовое соотношение между 5:1 и 1:5 первого вектора и второго вектора трансфицируют в клетки-хозяев. В некоторых вариантах осуществления используется массовое соотношение между 1:1 и 1:5 для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления используется массовое соотношение 1:2 для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь.

В некоторых вариантах осуществления выбран вектор, который оптимизирован для экспрессии полипептидов в клетках CHO или клетках, полученных из CHO, или в клетках NSO. Примеры таких векторов описаны, например, в Running Deer et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:880-889.

#### Клетки-хозяева

В некоторых вариантах осуществления тяжелые цепи антитела против LILRB2 и/или легкие цепи антитела против LILRB2 могут экспрессироваться в прокариотических клетках, таких как бактериальные клетки; или в эукариотических клетках, таких как клетки грибов (такие как дрожжи), растительные клетки, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Такая экспрессия может проводиться, например, в соответствии с процедурами, известными в данной области техники. Иллюстративные эукариотические клетки, которые можно использовать для экспрессии полипептидов, включают, но не ограничиваются ими, клетки COS, включая клетки COS 7; клетки 293, в том числе клетки 293-6E; клетки CHO, включая CHO-S, DG44. Клетки Lec13 CHO, и клетки FUT8 CHO; клетки PER.C6<sup>®</sup>s (Stucell); и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления тяжелые цепи антитела против LILRB2 и/или легкие цепи антитела против LILRB2 могут быть экспрессированы дрожжами. См., например, публикацию США U.S. 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления конкретную эукариотическую клетку-хозяина выбирают на основании ее способности выполнять желательные посттрансляционные модификации тяжелых цепей антитела против LILRB2 и/или легких цепей антитела против LILRB2. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки CHO продуцируют полипептиды, которые имеют более высокий уровень сиапирования, чем тот

же полипептид, продуцируемый в клетках 293.

Введение одной или более нуклеиновых кислот в желаемую клетку-хозяина может быть осуществлено любым способом, включая, но не ограничиваясь ими, кальций-фосфатную трансфекцию, трансфекцию, опосредованную DEAE-декстраном, трансфекцию, опосредованную катионными липидами, электропорацию, трансдукцию, инфекцию и т. д. Неограничивающие примеры способов описаны, например, в Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3<sup>rd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Нуклеиновые кислоты могут быть временно или стабильно трансфицированы в желаемые клетки-хозяев в соответствии с любым подходящим способом.

Также предложены клетки-хозяева, содержащие любой из полинуклеотидов или векторов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предложена клетка-хозяин, содержащая антитело против LILRB2. Любые клетки-хозяева, способные сверхэкспрессировать гетерологичные ДНК, могут быть использованы с целью выделения генов, кодирующих антитело, полипептид или белок, представляющий интерес. Неограничивающие примеры клеток-хозяев млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, клетки COS, HeLa и CHO. См. также публикацию PCT № WO 87/04462. Подходящие клетки-хозяева отличных от млекопитающих организмов включают прокариоты (такие как *E. coli* или *B. subtilis*) и дрожжи (такие как *S. cerevisiae*, *S. pombe* или *K. lactis*).

#### Очистка антител

Антитела против LILRB2 могут быть очищены любым подходящим способом. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, использование аффинных матриц или хроматографию с гидрофобным взаимодействием. Подходящие аффинные лиганды включают ВКД ROR1 и лиганды, которые связывают константные области антитела. Например, колонку с протеином А, протеином G, протеином А/G или колонку с иммобилизованными антителами можно использовать для связывания константной области и для очистки антитела против LILRB2. Хроматография с гидрофобным взаимодействием, например, бутильная или фенильная колонка, также может подходить для очистки некоторых полипептидов, таких как антител. Ионообменная хроматография (например, анионообменная хроматография и/или катионообменная хроматография) также может подходить для очистки некоторых полипептидов, таких как антитела. Хроматография со смешанным режимом (например, обращенная фаза/анионообменная, обращенно-фазовая/катионообменная, гидрофильная/анионообменная, гидрофильная/катионообменная и т. д.) также может подходить для очистки некоторых полипептидов, таких как антитела. В данной области техники известны многие способы очистки полипептидов.

#### Бесклеточное получение антител

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 получают в бесклеточной системе. Неограничивающие иллюстративные бесклеточные системы описаны, например, в Sitaraman et al., 2009, *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44; Spirin, 2004,

Trends Biotechnol. 22: 538-45; Endo et al., 2003, Biotechnol. Adv. 21: 695-713.

#### Композиции

В некоторых вариантах осуществления изобретения предложены антитела, полученные при помощи способов, описанных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело получают в клетке-хозяине. В некоторых вариантах осуществления антитело получают в бесклеточной системе. В некоторых вариантах осуществления антитело очищают. В некоторых вариантах осуществления антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе, представляет собой химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе, представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе, представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах предложена среда для культивирования клеток, содержащая антитело против LILRB2. В некоторых вариантах осуществления предложена культуральная жидкость клетки-хозяина, содержащая антитело против LILRB2.

В некоторых вариантах осуществления предложены композиции, содержащие антитела, полученные при помощи способов, описанных выше. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело, полученное в клетке-хозяине. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело, полученное в бесклеточной системе. В некоторых вариантах композиция содержит очищенное антитело. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит химерное антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит гуманизированное антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит человеческое антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе.

В некоторых вариантах осуществления предложена композиция, содержащая антитело против LILRB2 в концентрации более чем около любой из 10 мг/мл, 20 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл, 50 мг/мл, 60 мг/мл, 70 мг/мл, 80 мг/мл, 90 мг/мл, 100 мг/мл, 125 мг/мл, 150 мг/мл, 175 мг/мл, 200 мг/мл, 225 мг/мл или 250 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит химерное антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит гуманизированное антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит человеческое антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе.

#### **V. Терапевтические композиции и способы**

##### Способы лечения заболеваний с использованием антител против LILRB2

Предложены антитела и композиции, содержащие антитела, для применения в способах лечения людей или животных. Также предложены способы лечения заболевания, включающие введение антител против LILRB2. Неограничивающие иллюстративные заболевания, которые можно лечить антителами против LILRB2, включают, но не

ограничиваются ими, злокачественное новообразование.

Более подробно, примеры заболеваний, таких как злокачественное новообразование, которые можно лечить в соответствии со способами согласно изобретению, включают солидные и гематологические/лимфатические злокачественные новообразования, а также злокачественный, предзлокачественный и доброкачественный рост, такой как дисплазия. Примеры злокачественного новообразования включают, но не ограничиваясь этим, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких злокачественных новообразований включают рак почки (например, почечно-клеточный рак, например, папиллярный почечно-клеточный рак), плоскоклеточный рак, мезотелиому, тератому, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого), рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта (например, рак желудка), рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак печени, рак простаты, рак влагалища, рак щитовидной железы, тимому, рак печени, рак мозга, глиому, глиобластому, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, холангиосаркому, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому (например, увеальную меланому), феохромоцитому, параганглиому, аденокистозную карциному и различные виды злокачественных новообразований головы и шеи (например, плоскоклеточный рак головы и шеи).

При необходимости субъектам можно вводить антитело против LILRB2. Определение частоты введения может быть произведено квалифицированными специалистами, такими как лечащий врач, исходя из соображений о патологическом состоянии, которое лечат, возраста субъекта, которого лечат, тяжести патологического состояния, которое лечат, общего состояния здоровья субъекта, которого лечат, и тому подобного. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела против LILRB2 вводят субъекту один или более раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела против LILRB2 вводят субъекту один раз в месяц, менее одного раза в месяц, например, каждые два месяца или каждые три месяца. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела против LILRB2 вводят менее одного раза в месяц, например, каждые две недели или каждую неделю. Эффективную дозу антитела против LILRB2 вводят субъекту по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела против LILRB2 можно вводить несколько раз, в том числе в течение периодов: по меньшей мере месяца, по меньшей мере шести месяцев или по меньшей мере года.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения (включая профилактику) злокачественного новообразования. Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от

массы субъекта, которого лечат, его или ее физического состояния или состояния здоровья, запущенности патологического состояния, подлежащего лечению, или возраста субъекта, которого лечат. В общем, антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 10 мкг/кг массы тела до около 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 50 мкг/кг массы тела до около 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,5 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для того, чтобы вызвать превращение M2-подобных макрофагов в M1-подобные макрофаги.

Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от массы субъекта, которого лечат, его или ее физического состояния или состояния здоровья, запущенности патологического состояния, подлежащего лечению, или возраста субъекта, которого лечат. В общем, антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 10 мкг/кг массы тела до около 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 50 мкг/кг массы тела до около 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,5 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу.

#### Фармацевтические композиции

В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие антитела против LILRB2, предложены в составах с широким разнообразием фармацевтически приемлемых носителей (см., например, Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20th ed. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7<sup>th</sup> ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3<sup>rd</sup> ed., Pharmaceutical Press (2000)). Доступны различные фармацевтически приемлемые носители, в том числе растворители, вспомогательные вещества и разбавители. Кроме того, также доступны различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, например, регулирующие pH и буферные агенты, агенты, регулирующие тоничность, стабилизаторы, смачивающие

агенты и тому подобные. Неограничивающие примеры носителей включают солевой раствор, забуференный солевой раствор, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело против LILRB2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гуманизованное антитело. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело, полученное в клетке-хозяине или бесклеточной системе, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения (включая профилактику) злокачественного новообразования. Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от массы субъекта, которого лечат, его или ее физического состояния или состояния здоровья, запущенности патологического состояния, подлежащего лечению, или возраста субъекта, которого лечат. В общем, антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,05 мг/кг массы тела до около 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 10 мкг/кг массы тела до около 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 50 мкг/кг массы тела до около 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,5 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,5 мг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,05 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,05 мг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить в количестве в диапазоне около 5 мг/кг массы тела или ниже, например, менее 4, менее 3, менее 2 или менее 1 мг/кг антитела.

В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 могут присутствовать в количестве в диапазоне от около 50 мкг/кг массы тела до около 5 мг/кг массы тела на дозу. Например, в некоторых вариантах осуществления доза для человека

массой 20 кг может находиться в диапазоне от около 1 мг до около 100 мг. В некоторых вариантах осуществления доза может находиться в диапазоне от 2 мг до 200 мг антитела против LILRB2. В некоторых вариантах осуществления доза может находиться в диапазоне от 10 мг до 400 мг антитела против LILRB2.

#### Пути введения

В некоторых вариантах осуществления антитела против LILRB2 можно вводить *in vivo* различными путями, включая, но не ограничиваясь этим, внутривенный, внутриартериальный, парентеральный, внутриопухолевый, внутрибрюшинный или подкожный. Соответствующий состав и путь введения могут быть выбраны в соответствии с предполагаемым применением.

#### Комбинированная терапия

Антитела против LILRB2 можно вводить отдельно или с другими способами лечения, например, с дополнительным терапевтическим агентом. Они могут быть обеспечены до, по существу, одновременно или после других способов лечения, например, хирургического вмешательства, химиотерапии, лучевой терапии или введения биологического препарата, такого как другое терапевтическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 вводят в комбинации с другим противораковым агентом.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, вводят с препаратом против PD-1. Иллюстративные препараты против PD-1 включают, но не ограничиваются этим, ниволумаб (BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538); пидилизумаб, ламбролизумаб/пембролизумаб (KEYTRUDA, MK-3475); дурвалумаб; RG-7446; авелумаб (MSB-0010718C); AMP-224; BMS-936559 (антитело против PD-L1); AMP-514; MDX-1105; ANB-011; анти-LAG-3/PD-1; анти-PD-1 Ат (CoStim); анти-PD-1 Ат (Kadmon Pharm.); анти-PD-1 Ат (Immunovo); анти-TIM-3/PD-1 Ат (AnaptysBio); анти-PD-L1 Ат (CoStim/Novartis); MEDI-4736 (антитело против PD-L1, Medimmune/AstraZeneca); RG7446/MPDL3280A (антитело против PD-L1, Genentech/Roche); KD-033, антагонист PD-1 (Agenus); STI-A1010; STI-A1110; TSR-042; и другие антитела и другие агенты, которые направлены против белка программируемой смерти-1 (PD-1) или лиганда 1 белка программируемой смерти (PD-L1) (например, JTX-4014, US 2018/0118829).

В некоторых вариантах осуществления субъект выбирает для лечения антителом против LILRB2, предложенного в данном документе, и для препарата против PD-1, если опухоль субъекта является PD-L1<sup>HIGH</sup>. Определение уровня PD-L1 может быть выполнено, например, с использованием ИГХ (иммуногистохимии). В некоторых вариантах осуществления субъекта сначала лечат препаратом против PD-1, а затем лечат антителом против LILRB2, предложенным в данном документе, с продолжением применения препарата против PD-1 или без него. Таким образом, способы, предложенные в данном документе, включают лечение субъекта антителом против LILRB2, причем субъект ранее получал лечение препаратом против PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, вводят пациентам, у которые обнаруживают присутствие макрофагов в одной или более опухолях. Присутствие макрофагов может быть определено, например, по мРНК сигнатуре или при помощи ИГХ.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, вводят с одним или более препаратами, выбранными из: антитела против CD47 (например, CC90002 (Celgene) или Hu5F9-G4 (Forty Seven, Inc.)); антитела против SIRP-альфа (например, OSE-172 (OSE Immunotherapeutics)); пегилированного ИЛ-2 (например, NKTR-214 (Nektar Therapeutics)); антитела против VEGF (например, бевацизумаба (AVASTIN<sup>®</sup>)); TTI-621 или TTI-624 (Trillium Therapeutics SIRPa-Fc); ALX148 (Alexo, SIRPa-Fc) и ингибитора IDO (например, эпикадостата (Incyte)).

В некоторых вариантах осуществления субъект выбирают для лечения антителом против LILRB2, предложенным в данном документе, и препаратом против ICOS (например, JTX-2011, например, как описано в публикации патента США № 2016/0304610, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). В некоторых вариантах осуществления субъекта сначала лечат препаратом против ICOS, а затем лечат антителом против LILRB2, предложенным в данном документе, с продолжением применения препарата против ICOS или без него. Таким образом, способы, предложенные в данном документе, включают лечение субъекта антителом против LILRB2, причем субъект ранее получал лечение препаратом против ICOS.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, вводят вместе с агонистическим антителом против OX40 (таким как Medi6469, MedImmune; MOXR0916/RG7888, Roche). В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, вводят с антителом против CTLA4 (таким как ипилимумаб, YERVOY<sup>®</sup>, BMS-734016; MDX-101).

В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент. Иллюстративные химиотерапевтические агенты, которые можно комбинировать с антителами против LILRB2, предложенными в данном документе, включают, но не ограничиваются ими, капецитабин, циклофосфамид, дакарбазин, темозоломид, циклофосфамид, доцетаксел, доксорубицин, даунорубицин, цисплатин, карбоплатин, эпирубицин, эрибулин, 5-ФУ, гемцитабин, иринотекан, иксабепилон, метотрексат, митоксантрон, оксалиплатин, паклитаксел, наб-паклитаксел, ABRAXANE<sup>®</sup> (связанный с белками паклитаксел), пеметрексед, винорелбин и винкристин. В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, вводят по меньшей мере с одним ингибитором киназы. Неограничивающие иллюстративные ингибиторы киназы включают эрлотиниб, афатиниб, gefитиниб, кризотиниб, дабрафениб, траметиниб, вемурафениб и кобиметаниб.

В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор IDO. Неограничивающие иллюстративные ингибиторы



IDO описаны, например, в US 2016/0060237; и US 2015/0352206. Неограничивающие иллюстративные ингибиторы IDO включают индоксимод (New Link Genetics), INCB024360 (Incyte Corp), 1-метил-D-триптофан (New Link Genetics) и GDC-0919 (Genentech).

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, вводят в комбинации с иммуномодулирующим лекарственным средством (IMiD). Неограничивающие иллюстративные IMiD включают талидомид, леналидомид и помалидомид.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2 применяют со вторым терапевтическим способом лечения. Таким образом, применение антитела, предложенного в данном документе, может осуществляться в комбинации с другой системой лечения.

В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой противораковую вакцину. Противораковые вакцины были исследованы в виде потенциального подхода для переноса антигена и активации дендритных клеток. В частности, вакцинация в комбинации с иммунологическими контрольными точками или агонистами для костимулирующих путей продемонстрировала доказательства преодоления толерантности и формирования повышенного противоопухолевого ответа. Был протестирован ряд противораковых вакцин, в которых применяются различные подходы для стимуляции иммунного ответа против опухоли (см., например, Emens, 2008, *Expert Opin. Emerg. Drugs*, 13(2): 295-308). Были разработаны подходы для усиления ответа В-клеток, Т-клеток или профессиональных антигенпрезентирующих клеток на опухоли. Иллюстративные типы противораковых вакцин включают, но не ограничиваются этим, вакцины на основе пептидов, в которых применяется нацеливание на отдельные опухолевые антигены, которые могут доставляться в виде пептидов/белков или в виде генно-инженерных ДНК-векторов, вирусов, бактерий или тому подобного; и подходы клеточной биологии, например, для разработки противораковых вакцин против менее четко определенных целей, включая, но не ограничиваясь этим, вакцины на основе дендритных клеток, полученных от пациентов, аутологичных опухолевых клеток или лизатов опухолевых клеток, аллогенных опухолевых клеток и тому подобного.

Неограничивающие иллюстративные противораковые вакцины включают Sipuleucel-T, которую получают из аутологичных мононуклеарных клеток периферической крови (МПКП), которые включают антигенпрезентирующие клетки (см., например, Kantoff PW et al., 2010, *N Engl J Med* 363:411-22). В поколении Sipuleucel-T МПКП пациента активируются *ex vivo* с помощью PA2024, рекомбинантного белка слияния фосфатазы простатической кислоты (антигена простаты) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (активатора иммунных клеток). Другой подход к кандидатной противораковой вакцине заключается в создании иммунного ответа против специфических пептидов, мутировавших в опухолевой ткани,

такой как меланома (см., например, Carreno et al., 2015, Science 348:6236). Такие мутированные пептиды могут в некоторых вариантах осуществления называться неоантигенами. В качестве неограничивающего примера применения неоантигенов в противоопухолевых вакцинах, неоантигены в опухоли, для которых спрогнозировано связывание с белком главного комплекса гистосовместимости HLA-A\*02: 01, идентифицированы для отдельных пациентов со злокачественным новообразованием, таким как меланома. Дендритные клетки из пациента созревают *ex vivo*, затем их инкубируют с неоантигенами. Затем активированные дендритные клетки вводят пациенту. В некоторых вариантах осуществления после введения противораковой вакцины обнаруживается устойчивый Т-клеточный иммунитет против неоантигена.

В некоторых таких вариантах осуществления противораковая вакцина разработана с использованием неоантигена. В некоторых вариантах осуществления противораковая вакцина представляет собой ДНК-вакцину, такую как ДНК-вакцина к маммаглобину-А (см., например, Gillanders et al., 2014, Clin. Canc. Res., 20: 5964-75). В некоторых вариантах осуществления противораковая вакцина представляет собой сконструированный вирус, содержащий раковый антиген, такой как PROSTVAC (рилимоген галвацирепвек/рилимоген глафолибек). В некоторых вариантах осуществления противораковая вакцина содержит сконструированные опухолевые клетки, такие как GVAX, которая представляет собой вакцина на основе опухолевых клеток, трансфицированную геном гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ), (см., например, Nemunaitis, 2005, Expert Rev Vaccines, 4: 259-74).

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, описанное в данном документе, вводят до, одновременно или после противораковой вакцины. В некоторых вариантах осуществления противораковые вакцины, разработанные с использованием неоантигенов, используют в комбинации с антителами против LILRB2, описанными в данном документе. В некоторых таких вариантах осуществления комбинацию используют для лечения злокачественного новообразования с высокой мутационной нагрузкой, такого как меланома, злокачественное новообразование легкого, мочевого пузыря или злокачественное новообразование толстой кишки.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LILRB2, предложенное в данном документе, применяют в комбинации с терапией с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR-T-терапия). CAR Т-клетка может быть генетически модифицирована для экспрессии рецептора, который распознает антиген, экспрессируемый опухолевой клеткой. Антиген может представлять собой антиген, специфически экспрессируемый опухолью, или антиген, экспрессируемый как раковыми клетками, так и здоровой тканью. В некоторых вариантах осуществления CAR Т-клетка представляет собой CAR Т-клетку к BCMA. В некоторых вариантах осуществления CAR-T-терапия представляет собой адаптивную CAR-T-терапию, в которой Т-клетки пациента отбирают и модифицируют для экспрессии химерного антигенного рецептора, а затем возвращают пациенту. См., например, Dai et al., 2016, J Natl Cancer Inst, 108 (7): djv439,

doi: 10.1093/jnci/djv439; Gill et al., 2015, Blood Rev, pii: S0268-960X(15)00080-6, doi: 10.1016/j.blre.2015.10.003; Gill et al., 2015, Immunol. Rev, 263(1):68-89. doi: 10.1111/imr.12243.

#### Наборы/промышленные изделия

В данном документе также предложены наборы, лекарственные средства, композиции и единичные лекарственные формы для использования в любом из способов, описанных в данном документе.

Наборы могут содержать один или более контейнеров, содержащих антитело против LILRB2 (или единичные лекарственные формы и/или промышленные изделия). В некоторых вариантах осуществления предложена однократная дозировка, причем однократная дозировка содержит заранее определенное количество композиции, содержащей антитело против LILRB2, с одним или более дополнительными агентами или без них. В некоторых вариантах осуществления подобная однократная дозировка предоставлена в одноразовом предварительно заполненном шприце для инъекции. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащаяся в однократной дозировке, может содержать физиологический раствор, сахарозу или тому подобное; буфер, например, фосфат или тому подобное; и/или может быть составленной в пределах стабильного и эффективного диапазона pH. В некоторых вариантах осуществления композиция может быть предложена в виде лиофилизированного порошка, который может быть восстановлен после добавления подходящей жидкости, например, стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит одно или более веществ, которые ингибируют агрегацию белка, в том числе, но без ограничения этим, сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит гепарин и/или протеогликан.

В некоторых вариантах осуществления количество антитела против LILRB2, используемого в однократной дозе, может быть любым из количеств, предложенных в данном документе для различных описанных способов и/или композиций.

В некоторых вариантах осуществления наборы дополнительно содержат инструкции по применению при лечении рака в соответствии с любым из способов, описанных в данном документе. Набор может дополнительно содержать описание выбора индивидуума подходящего для лечения. Инструкции, поставляемые в наборах, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или листке-вкладыше (например, лист бумаги, входящий в набор), но также приемлемы машиночитаемые инструкции (например, инструкции, хранящиеся на магнитном или оптическом диске). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит другой терапевтический агент.

Наборы находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, но не ограничивается ими, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и тому подобное. Наборы могут дополнительно обеспечивать дополнительные компоненты, такие как буферы и интерпретирующую

информацию. Таким образом, данная заявка также обеспечивает промышленные изделия, которые включают флаконы (такие как герметичные флаконы), бутылки, банки, гибкую упаковку и тому подобное.

### **ПРИМЕРЫ**

Примеры, обсуждаемые ниже, предназначены только для иллюстрации изобретения и не должны рассматриваться в качестве ограничения изобретения каким-либо образом. Примеры не подразумевают того, что эксперименты, приведенные ниже, представляют собой все или единственные проведенные эксперименты. Были предприняты усилия, чтобы обеспечить точность в отношении используемых чисел (например, количества, температуры и т. д.), но должны учитываться некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, температура указана в градусах по Цельсию, а давление равно атмосферному или близко к нему.

#### **Пример 1. Эксперименты на культуре HLA-G клеток**

В следующем примере исследуется роль HLA-G в подавлении функции миелоидных клеток. На Фиг. 1 показана модель миелоидной клетки, экспрессирующей LILRB2, и опухолевой клетки, экспрессирующей HLA-G. Блокирующее антитело против LILRB2 изображено между LILRB2, экспрессируемым на миелоидной клетке, и HLA-G, экспрессируемым на опухолевой клетке. Мультимерный HLA-G, экспрессируемый в виде тетрамеров, использовали в анализах первичных миелоидных клеток человека для исследования роли HLA-G в подавлении функции дендритных клеток.

Неприлипающие незрелые дендритные клетки (iDC) собирали и дважды промывали в 1хDPBS (Gibco), а затем высевали по  $1 \times 10^5$  клеток на лунку в 96-луночный круглодонный планшет для культивирования тканей с обработанной поверхностью в RPMI1640, дополненный GLUTAMAX™ (Gibco) и 10% HI-FBS (Sigma). iDC или высевали в одних питательных средах, или оставляли созревать в питательных средах, содержащих PGE2, ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , в присутствии или в отсутствие тетрамера HLA-G (Центр исследований рака Фреда Хатчинсона) и инкубировали при 37 °C +5% CO<sub>2</sub>. Через 24 часа супернатанты собирали для анализа цитокинов при помощи цитометрии с использованием иммобилизованных на частицах антител (CBA) в соответствии с протоколом производителя (BD) и анализировали с использованием анализатора Accuri C6 (BD). Клетки окрашивали антителами, специфическими для важных молекул презентации антигена, а клеточную экспрессию этих маркеров оценивали с использованием проточного цитометра FACSCelesta™ (BD).

ДК, созревшие в присутствии тетрамера HLA-G, демонстрировали снижение экспрессии маркеров созревания CD80 и CD86 (Фиг. 2A-2F). Этот ингибирующий эффект был отменен при инкубации тетрамеров HLA-G с LILRB2<sup>low</sup> донорными дендритными клетками (Фиг. 2G-2L). Эти результаты демонстрируют, что растворимый HLA-G блокирует созревание и способность дендритных клеток развиваться в мощные антигенпрезентирующие клетки, и что HLA-G-опосредованная супрессия зависит от LILRB2, экспрессируемого на дендритных клетках.

### **Пример 2. Получение антител**

Мышей и крыс иммунизировали человеческим белком LILRB2 или клетками, сверхэкспрессирующими человеческий LILRB2, с помощью ДНК плазмиды, кодирующей человеческий LILRB2. Все антитела, кроме J-16 и J-18 к J-20, имеют мышье происхождение; J-16 и J-18-J-20 получены от иммунизаций крыс. Супернатанты гибридных клонов подвергали скринингу на специфичность к человеческому LILRB2 относительно других членов семейства LILR с использованием линий клеток, сверхэкспрессирующих полноразмерные белки LILR. Представляющие интерес гибридные клоны размножали в большом количестве, а супернатант очищали для более обширного скрининга антител, после чего представляющие интерес клоны секвенировали и получали при помощи рекомбинантного способа в виде человеческих химер IgG4. (См. Фиг. 3А и 3В).

### **Пример 3. Скрининг химерных антител: проведение первичного скрининга антител против LILRB2**

Из-за высокой степени сходства последовательностей среди одиннадцати известных членов семейства LILR человека антитела подвергали скринингу на специфичность в отношении всех членов семейства на стадиях гибридного клона, увеличения количества гибридом, химерных и гуманизированных антител. Специфичность проверяли как на клетках, так и с рекомбинантным белком с использованием FORTEBIO<sup>®</sup> ОСТЕТ<sup>®</sup> на стадии химерных антител.

На клетках специфичность определяли по связыванию антител ниже двукратного порогового значения изотипического контроля. Антитела положительного контроля использовали для установления экспрессии членов семейства на клеточной поверхности, и антитела также оценивали относительно положительного контроля.

Для анализа растворимого рекомбинантного белка рекомбинантные белки семейства LILR экспрессировали в виде 6xHis- и/или человеческих Fc1-слитых белков. Антитела загружали в сенсоры Anti-Human Capture (АНС) в концентрации 10 мкг/мл, и сенсоры погружали в буфер для кинетических исследований. Контрольные антитела были аналогичным образом загружены в сенсор. Если использовали человеческие Fc-слитые белки, сенсоры блокировали человеческим белком Fc и погружали в буфер для кинетических исследований. Сенсоры затем тестировали на связь с белками-членами семейства при 300 нМ. Связывание считается ответом выше 0,08 нм порогового значения на приборе ОСТЕТ<sup>®</sup>.

Химерные (hIgG4) антитела против LILRB2 отбирали на основе специфичности к экспрессируемому клетками hLILRB2 в сравнении с десятью другими членами семейства LILR человека, способности блокировать взаимодействия лигандов с экспрессируемым клетками LILRB2 и способности превращать M2-подобные макрофаги в M1-подобные макрофаги, имеющие статус активации воспаления в анализе первичных человеческих макрофагов. Выбранные LILRB2-специфические лиганд-блокирующие антитела дополнительно подвергали скринингу на связывание с моноцитами примата, отличного от

человека (NHP). Изотипическое контрольное антитело было включено во все скрининговые исследования для определения фоновых сигналов. Ниже описаны конкретные критерии и стратегия, применяемые для идентификации лиганд-блокирующих, hLILRB2-специфических химерных антител. Результаты приведены на Фиг. 3А и 3В и подробно описаны ниже.

*Сводная информация о сортировке антител*

Подмножество антител против LILRB2 связывали с использованием ОСТЕТ® Red96 в сэндвич-формате. Вкратце, антитело № 1 (указано в столбце 1) загружали в сенсор АНС в концентрации 10 мкг/мл. Наконечники погружали в буфер для кинетических исследований, блокировали hFc1, погружали в буфер для кинетических исследований, затем загружали человеческим LILRB2. Наконечники снова погружали в буфер для кинетических исследований и загружали 10 мкг/мл антитела № 2 (указано в строке 1). Значения ответа, приведенные в таблице 2 ниже, представляют собой связывание антитела № 2 в описанном сэндвич-формате.

Таблица 2. Результаты анализа конкурентного связывания

	<b>J-17</b>	<b>J-19</b>	<b>J-11</b>	<b>J-03</b>	<b>J-16</b>	<b>J-07</b>	<b>J-04</b>
<b>J-17</b>	-0,11	-0,10	-0,27	0,43	0,52	0,40	0,46
<b>J-19</b>	-0,21	-0,21	0,28	0,54	0,63	0,45	0,54
<b>J-11</b>	-0,39	0,71	-0,24	0,51	0,65	0,47	0,54
<b>J-03</b>	0,05	0,15	0,01	-0,08	-0,08	-0,07	-0,07
<b>J-16</b>	0,09	0,47	0,30	-0,28	-0,36	-0,26	-0,31
<b>J-07</b>	0,04	0,27	0,10	-0,29	-0,30	-0,28	-0,30
<b>J-04</b>	0,42	0,67	0,51	-0,10	-0,10	-0,10	-0,10

Антитела, идентифицированные как вещества, специфически связывающиеся с LILRB2, и сильные блокаторы связывания HLA-G с LILRB2 (J-19, J-11 и J-17), попадают в близкие, но не полностью перекрывающиеся эпитопные группы. J-11 и J-19 не блокировали связывание друг друга с LILRB2, но оба блокировались J-17. Антитела, которые специфичны к LILRB2, но не блокируют HLA-G, J-04, J-03 и J-07, связываются в отдельной группе из трех антител, которые специфичны и блокируют HLA-G, но из той же группы, что и антитело, которое блокирует связывание HLA-G с LILRB2, но перекрестно реагирует с LILRA1, J-16. Результаты приведены в таблице 3 ниже.

Таблица 3. Результаты сортировки антител

мкАт1	J-17	J-19	J-11	J-03	J-16	J-07	J-04
Блокированное мкАт	J-19	J-17	J-17	J-16	J-03	J-16	J-16
Блокированное мкАт	J-11			J-07	J-07	J-03	J-03
Блокированное мкАт				J-04	J-04	J-04	J-07
группа	A/B	A	B	C	C	C	C

**Пример 4. Скрининг химерных антител: скрининг на перекрестную реактивность с членами семейства LILR**

Целью этого скрининга было выявление антител со специфическим связыванием с hLILRB2, экспрессируемым на клетках, с помощью обратного скрининга в отношении экспрессируемых клетками hLILRB1, hLILRB3, hLILRB4, hLILRB5, hLILRA1, hLILRA2, hLILRA3, hLILRA4, hLILRA5 и hLILRA6. 25 химерных (hIgG4) антител были подвергнуты скринингу на клеточную специфичность в отношении hLILRB2. Положительные совпадения в отношении связывания hLILRB2 были идентифицированы как антитела, которые связывают hLILRB2-CHO-s более чем в два раза, чем связывает эти клетки изотипическое контрольное мкАт. Антитела, которые также связывали клетки, не экспрессирующие LILRB2, более чем в два раза, чем их связывает изотипическое контрольное мкАт, были обозначены как неспецифические к LILRB2 или перекрестно-реактивные.

Как показано на Фиг. 4, было подтверждено, что 76% протестированных химерных антител связываются с экспрессируемым клетками человеческим LILRB2. 78% этих hLILRB2-связывающих антител проявляли специфическое связывание с hLILRB2 по сравнению с другими десятью членами семейства hLILR, сверхэкспрессируемыми на CHO-s. Было обнаружено, что антитела, детектируемые со связыванием в 2 раза превышающим связывание изотипического контроля для другой линии клеток со сверхэкспрессией LILR в дополнение к hLILRB2 CHO-s, являются перекрестно-реактивными в отношении hLILRB3, hLILRA1, hLILRA2 и/или hLILRA3. В данном скрининге не было выявлено никаких перекрестно-реактивных антител к hLILRB1, hLILRB4, hLILRA4, hLILRA5 или hLILRA6.

**Пример 5. Скрининг химерных антител: скрининг в отношении HLA-G-блокирующих химерных мкАт против LILRB2 и HLA-A2-блокирующих химерных мкАт против LILRB2**

Антитела дополнительно подвергали скринингу на способность блокировать взаимодействия лиганд-рецептор в клеточном анализе. После связывания HLA-G с LILRB2 миелоидные клетки становятся иммуносупрессивными. Таким образом, прогнозируется, что идентификация антител против LILRB2, способных блокировать

взаимодействие HLA-G:LILRB2, окажет благоприятный эффект для стимулирования противоопухолевых ответов. В дополнение к HLA-G, другими лигандами LILRB2, способными подавлять миелоидные клетки, являются молекулы классического главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) класса I, такие как HLA-A2.

Во вторичном скрининге в 96-луночный круглодонный планшет для культивирования тканей с обработанной поверхностью высевали  $1 \times 10^5$  клеток CHO-s со сверхэкспрессией человеческого LILRB2, и дважды промывали 1xDPBS (Gibco) и инкубировали с 10 мкг/мл первичного антитела (мкАт против LILRB2 или контролем), приготовленного в 50 мкл буфера для FACS (1xDPBS, содержащий 2% HI-FBS (Sigma) + 0,05% азида натрия). После инкубации с мкАт в течение 30 минут при 4°C клетки дважды промывали в буфере для FACS и затем ресуспендировали в 50 мкл буфера для FACS, содержащего 5 мкг/мл APC-конъюгированного тетрамера HLA-A2 или HLA-G (Fred Hutch). Клетки инкубировали в защищенном от света месте в течение 30-60 минут при 4 °С. После инкубации с тетрамером клетки промывали в буфере для FACS и ресуспендировали в фиксированном буфере (1,5% параформальдегид, разведенный в 1xDPBS). Образцы анализировали с использованием проточного цитометра Celesta (BD Biosciences). Данные представляют собой процент тетрамера, заблокированного мкАт, относительно незблокированного тетрамера, рассчитанный по следующему уравнению:

$$\% \text{ заблокированного тетрамера} = 100 - \left( \frac{(\text{СИФ}_{\text{Тетрамер+мкАт}})}{\text{СИФ}_{\text{Тетрамер}}} \times 100 \right)$$

Результаты исследования, определяющего отличия HLA-G-блокирующих антител от HLA-G-неблокирующих антител, показаны на Фиг. 5. Антитела, способные блокировать взаимодействия HLA-G: LILRB2 на клетках, идентифицируют как процент тетрамера, связанного с LILRB2+ клетками в присутствии антитела, по сравнению с тетрамером, связанным с клетками в отсутствие антитела. Семь из 25 антител против LILRB2 блокировали связывание тетрамера HLA-G с hLILRB2+ CHO-s на по меньшей мере 50%. Ни одно из изотипических контрольных антител не блокировало HLA-G от связывания LILRB2+ клеток.

Результаты исследования, определяющего отличия HLA-A2-блокирующих антител от HLA-A2-неблокирующих антител, показаны на Фиг. 6. Антитела, способные блокировать взаимодействия HLA-A2: LILRB2 на клетках, идентифицируют как процент тетрамера, связанного с LILRB2+ клетками в присутствии антитела, по сравнению с тетрамером, связанным с клетками в отсутствие антитела. Шесть из 25 антител против LILRB2 блокировали связывание тетрамера HLA-A2 с hLILRB2+ CHO-s на по меньшей мере 50%. Ни одно из изотипических контрольных антител не блокировало HLA-A2 от связывания LILRB2+ клеток.

#### **Пример 6. Скрининг химерных антител: скрининг химерных мкАт против LILRB2 на биологическую активность в культуре клеток**

*Анализ высвобождения цитокинов монокультурой макрофагов человека*

Первичные человеческие моноциты из периферической крови здорового донора



дифференцировались в макрофаги в присутствии М-КСФ. После семи суток дифференцировки  $1 \times 10^5$  дифференцированных из моноцитов человеческих макрофагов (HMDM) высевали на лунку в 96-луночный круглодонный планшет для культивирования ткани с обработанной поверхностью в конечном объеме 200 мкл, содержащем 100 нг/мл ЛПС в отсутствие или в присутствии 1 мкг/мл растворимых мкАт в среде для культивирования клеток (RPMI (Gibco) + 10% FBS (Sigma)). После инкубации в течение 24 часов при 37 °С с 5% CO<sub>2</sub>, супернатант собирали и выполняли анализ при помощи цитометрии с использованием иммобилизованных на частицах антител (СВА) в соответствии с протоколом производителя (BD Biosciences) для определения содержания цитокинов, продуцируемых в ответ на мкАт. Образцы анализировали с использованием цитометра Accuri C6 (BD Biosciences). Данные представляют собой среднее от двух до четырех доноров.

Продукцию М1/воспалительных и М2/противовоспалительных цитокинов первичными HMDM определяли при помощи обработки растворимыми мкАт против LILRB2, как показано на Фиг. 7А и 7В. Измеренные М1/воспалительные цитокины включали ФНО- $\alpha$ , а также ИЛ-6 и ИЛ-1 $\beta$  (данные не показаны). Измеренные М2/противовоспалительные цитокины включали ИЛ-10, а также ССЛ-2 (данные не показаны). Продукция цитокинов описывается как нормированные уровни по сравнению с обработкой только ЛПС.

Наблюдалась положительная корреляция между М1-стимулирующей активностью (измеряемой по увеличению ФНО- $\alpha$ ), и способностью мкАт против LILRB2 блокировать взаимодействия HLA-G/A:LILRB2 (Фиг. 8А и 8В).

#### *Анализ Nanostring монокультуры макрофагов человека*

Первичные человеческие моноциты были дифференцированы в макрофаги в присутствии М-КСФ. После семи суток дифференцировки  $1 \times 10^5$  HMDM высевали в каждую лунку 96-луночного круглодонного планшета для культивирования ткани с обработанной поверхностью в конечном объеме 200 мкл, содержащем 100 нг/мл ЛПС в отсутствие или в присутствии растворимого 10 мкг/мл мкАт против hLILRB2 в среде для культивирования клеток (RPMI (Gibco) + 10% FBS (Sigma)). Для оценки активности мкАт в отсутствие ЛПС были подготовлены аналогичные условия. Клетки инкубировали при 37 °С с 5% CO<sub>2</sub>, и высевали в отдельные лунки для оценки изменений генов через четыре и 24 часа после обработки. В каждый момент времени супернатант собирали и РНК выделяли из клеток, количественно определяли с использованием Quibit и QC'd с использованием анализатора фрагментов ААТИ. Если из образца было экстрагировано достаточное количество РНК, экспрессию генов выполняли с использованием NanoString nCounter с использованием панели Human Immunology V2, а также с помощью специальной макрофаг-специфической добавки. Экспрессию генов нормировали к экспрессии генов домашнего хозяйства, затем с использованием данных от зондов отрицательного контроля определяли шумовое пороговое значение. Значения экспрессии гена преобразовали в log<sub>2</sub> шкалу, и данные от образцов, которые были обработаны

LILRB2-связывающими веществами были нормированы к данным от обработанного паливизумабом образца от того же донора. Данные представляют результаты от четырех доноров.

Log<sub>2</sub> (экспрессии генов) для каждого донора и каждого лечения нормировали к log<sub>2</sub>(экспрессии генов) в ответ на контроль паливизумабом. В таблицах 4 и 5 перечислены дифференциально экспрессируемые гены в присутствии или отсутствие ЛПС, соответственно, рассчитанные с использованием функции ttest в MATLAB. Гены, у которых медиана log<sub>2</sub> (кратное изменение) у всех доноров превышает 1 (т.е. 2-кратное увеличение) или менее -1 (т.е. 2-кратное уменьшение) с  $p < 0,05$  в ответ на все антитела против LILRB2 в отсутствие ЛПС после четырех часов воздействия лекарственных препаратов (таблица 4), и гены, которые были дифференциально экспрессированы в ответ на все антитела против LILRB2 в присутствии ЛПС после 24 часов воздействия препаратов (таблица 5). Эти изменения были одинаковыми среди доноров и являются основой для показателей сигнатур монокультуры, определенных в срезе гистокультуры.

Таблица 4. Дифференциальная экспрессия генов в ответ на антитела против LILRB2 в монокультуре через четыре часа без ЛПС

CCL4	CCL2	TNFAIP6	CLEC4E	CCL18	CASP10	СИТА
ИЛ-8	ИЛ-7R	BCL2	NFKB2	GBP1	CASP2	
CCL3	DUSP4	CXCL2	CCL5	SOCS3	TLR7	
ИЛ-1B	TNFSF15	CCL20	CCL7	CSF1	MAF	
CXCL1	ИЛ-1RN	NFKB1	SRC	CD40	IFI16	
TRAF1	ICAM1	NFKBIA	CEBPB	CCL23	ИЛ-16	
ИЛ-1A	TNFAIP3	TNFRSF4	TLR2	NTSE	KLRC4	
ФНО	CCL8	EGR1	CLEC5A	MBP	KLRK1	
IRAK2	CD83	NFKBIZ	RELB	TGFBR2	TLR8	
EGR2	TNFRSF9	PTGS2	PLAUR	BLNK	TNFSF10	

Таблица 5. Дифференциальная экспрессия генов в ответ на антитела против LILRB2 в монокультуре через 24 часа с ЛПС

ИЛ-6	ИЛ-23А	С3	ИЛ-21R
NTSE	CXCL2	CCL4	CXCL13
ИЛ-1А	ZEB1	GBP5	
CD123	PTGS2	SRC	
ИЛ-8	TNFSF15	CCL2	
CCL20	ФНО	TGFBI	
ИЛ-1RN	DPP4	CR1	
CXCL1	ICAM5	C1QB	
ИЛ-1В	ITGAX	CD36	
SPP1	CCL3	TRAF5	

**Пример 7. Скрининг химерных антител: скрининг химерных мкАт против LILRB2 на перекрестную реактивность к приматам, отличным от человека**

Способы

*Связывание первичных клеток*

Экспрессия LILRB2 у людей ограничена типами врожденных иммунных клеток, включая моноциты и нейтрофилы. Выбранные блокирующие HLA-G/A мкАт против LILRB2, способные стимулировать превращение M2- в M1-подобные макрофаги, тестировали на способность связывать моноциты человека, яванского макака и макака-резуса в цельной крови. Цельную кровь, полученную от здоровых доноров людей, яванских макаков и макаков-резусов, получали в пробирках с гепарином натрия. После получения 100 мкл неразбавленной цельной крови инкубировали с реактивом, блокирующим Fc-рецептор (TruStain, Biologend) в соответствии с протоколом производителя. После 15-минутной инкубации в кровь добавляли биотинилированные мкАт в концентрации 25 мкг/мл и инкубировали при комнатной температуре. Через 20 минут добавляли разбавленный стрептавидин-APC (BioLegend) и перекрестно-реактивный анти-CD14-BV421 клон M5E2 человека/NHP (BioLegend), и инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре. Эритроциты лизировали и образцы фиксировали с использованием 1x раствора Lyse/Fix (BD Biosciences) в соответствии с протоколом производителя. Образцы анализировали с использованием проточного цитометра Celesta (BD Biosciences). Моноциты идентифицировали у разных видов как в CD14<sup>hi</sup>, клетки с высоким боковым рассеянием (SSC<sup>hi</sup>), нейтрофилы идентифицировали как CD14<sup>lo</sup> клетки с высоким боковым рассеянием (SSC<sup>hi</sup>), а лимфоциты были идентифицированы как CD14<sup>neg</sup> с низким боковым рассеянием (SSC<sup>lo</sup>).

*Связывание на клетке со сверхэкспрессированным LILRB2 макака-резусов*

Связывание мкАт против hLILRB2 с белком LILRB2 макака-резуса (LILRBb) оценивали путем инкубации клеток LILRBb-CHO с выбранными мкАт против hLILRB2 в течение 30 минут. После инкубации клетки промывали и инкубировали с анти-hIgG-APC (Jackson Labs) в соответствии с протоколом производителя. Связывание клеток оценивали

с помощью проточной цитометрии с использованием проточного цитометра Celesta (BD Biosciences).

### Результаты

Все мкАт против LILRB2, протестированные в этом анализе, преимущественно связывали моноциты и нейтрофилы, а не лимфоциты в цельной крови человека (Фиг. 9А-9С). Одно мкАт против LILRB2 проявляло межвидовую реактивность как к яванскому макаку, так и к человеку, с аналогичным преимущественным связыванием с моноцитами и нейтрофилами по сравнению с лимфоцитами. Изотипические контрольные антитела незначительно связывались с какими-либо типами клеток в крови человека или NHP. На Фиг. 10А и 10В подтверждается, что эти результаты транслируются на клетки, которые сверхэкспрессируют LILRB2 NHP (LILRBb), так что то же антитело против hLILRB2, которое предпочтительно перекрестно связывается с моноцитами и нейтрофилами NHP, также специфически связывается с CHO-s, сверхэкспрессирующим LILRB2 макака-резуса (LILRBb), зависимым от дозы образом и не реагирует перекрестно с близкородственными членами семейства в макаке-резусе, включая LILRBa.

### **Пример 8. Гуманизация, характеристика аффинности и стратегия оценки для химерных антител-лидеров**

Лидерные химеры были гуманизированы путем прививки CDR антител-лидеров в человеческие каркасные области при сохранении определенных аминокислот для поддержки структуры петли и границы взаимодействия цепей. Всего было создано пять переменных областей тяжелой цепи и пять переменных областей легкой цепи, которые были экспрессированы в комбинации для создания в общей сложности 25 гуманизированных вариантов в остове человеческого IgG4. Эти варианты были экспрессированы в виде рекомбинантного белка и отфильтрованы на основе титра белка и аффинности к мишени человеческого LILRB2. Далее антитела были охарактеризованы по функциональным и биофизическим свойствам для уменьшения панели и выбора гуманизированных антител-лидеров.

С использованием чипа High Capacity Amine Mass-2 (Sierra Sensors), предварительно иммобилизованного козьим антителом против человеческого IgG AffiniPure, специфическим для фрагмента Fc $\gamma$ , гуманизированные антитела захватывали на поверхности с антителом против человеческого IgG, а затем измеряли связывание с человеческим LILRB2-His, пропуская через поверхность с антителом шесть различных концентраций от 65 до 0,27 нМ аналита. Поверхность с антителом против LILRB2 удаляли (10 mM глицин, pH 2,0) и повторно захватывали между всеми концентрациями или циклами только буфера. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Sierra Analyzer (версия 3.1.14). Все кривые вычитали дважды и аппроксимировали с использованием уравнения Ленгмюра 1: 1. Результаты приведены в таблице 6 ниже.

Таблица 6. Кинетика связывания антител

Шифр антитела	$k_a$ [1/(M·сек)]	$k_d$ [1/сек]	$K_D$ [M]
J-19.h	$5,15 \times 10^5$	$1,35 \times 10^{-3}$	$2,62 \times 10^{-9}$
J-11.h	$3,70 \times 10^5$	$9,13 \times 10^{-4}$	$2,47 \times 10^{-9}$
J-17.h	$1,56 \times 10^6$	$4,43 \times 10^{-4}$	$2,85 \times 10^{-9}$
J-19.h1	$3,91 \times 10^5$	$1,07 \times 10^{-3}$	$2,73 \times 10^{-9}$
J-19.h2	$5,21 \times 10^5$	$2,38 \times 10^{-3}$	$4,58 \times 10^{-9}$
J-19.h3	$5,18 \times 10^5$	$1,01 \times 10^{-3}$	$1,96 \times 10^{-9}$
J19.h4	$5,13 \times 10^5$	$1,20 \times 10^{-3}$	$2,33 \times 10^{-9}$

Гуманизированные (hIgG4) антитела против LILRB2 были дополнительно охарактеризованы на основе специфичности к экспрессируемому клетками hLILRB2 по сравнению с десятью другими членами семейства человеческих LILR, способности блокировать взаимодействия лигандов с экспрессируемому клетками LILRB2 и способности превращать M2-подобные макрофаги в M1-подобный статус активации воспаления в анализе первичных человеческих макрофагов. Антитела дополнительно подвергали скринингу на связывание с моноцитами примата, отличного от человека (NHP). Гуманизированные варианты дополнительно оценивали в отношении специфических  $EC/IC_{50}$  по аффинности к экспрессируемому в клетке LILRB2, блокированию лиганда и продукции цитокинов в функциональном анализе первичных макрофагов человека. Изотипическое контрольное антитело было включено во все скрининговые исследования для определения фоновых сигналов.  $EC/IC_{50}$  рассчитывали на основе преобразованных ненормированных данных с использованием программного обеспечения GraphPad Prism. Результаты приведены на Фиг. 11А и 11В и подробно описаны ниже.

### **Пример 9. Характеристика гуманизированных антител: скрининг перекрестной реактивности семейства LILR**

Цель этой оценки состояла в том, чтобы проверить, что антитела против LILRB2 сохраняют специфичность к hLILRB2, экспрессируемому на клетках после гуманизации, без связывания других родственных членов семейства LILR, включая hLILRB1, hLILRB3, hLILRB4, hLILRB5, hLILRA1, hLILRA2, hLILRA3, hLILRA4, hLILRA5 и hLILRA6. Положительные совпадения для связывания hLILRB2 были идентифицированы как антитела, которые связываются с равной трехкратной или более аффинностью изотипического контрольного антитела. Ни один из протестированных вариантов не превышает трехкратное неспецифическое связывание по сравнению с изотипом. Кроме того, были проведены измерения  $EC_{50}$  аффинности с использованием клеток.

#### Способы

Для проверки на специфичность к hLILRB2, а не к любому из десяти членов семейства LILR, использовали мультиплексный подход баркодирования на основе клеток путем окрашивания клеток красителями Far Red и/или Violet Cell Trace (Thermo Scientific) в соответствии с протоколом производителя или оставляли их неокрашенными. Вкратце,

клетки дважды промывали 1хDPBS и затем инкубировали с разбавленным красителем в 1хDPBS в течение 20 минут при 37 °С, осторожно перемешивая каждые 5-10 минут. Мечение красителем гасили добавлением равного объема 100% HI-FBS (Sigma) к клеткам. Обратите внимание, что LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4 и LILRB5 линии клеток также являются GFP-положительными, в то время как LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA5 и LILRA6 линии клеток являются GFP-отрицательными. Затем клетки дважды промывали в 1хDPBS, а затем все 11 линий клеток объединяли на лунку в 96-луночном круглодонном планшете для культивирования тканей с обработанной поверхностью. По меньшей мере  $25 \times 10^3$  клеток каждой линии клеток высевали на лунку. Затем клетки ресуспендировали в первичном антителе (мкАт против LILRB2 или в контроле), приготовленном в буфере для FACS (1хDPBS, содержащем 2% HI-FBS (Sigma) + 0,05% азида натрия). После инкубации при 4 °С в течение 30 минут клетки дважды промывали 1хDPBS и ресуспендировали в PE-антитело против человеческого IgG (BioLegend), разведенном 1: 200 в буфере для FACS. После 30-минутной инкубации при 4 °С в защищенном от света месте клетки промывали в 1хDPBS и ресуспендировали в фиксированном буфере (1,5% параформальдегид, разведенный в 1хDPBS). Образцы анализировали с использованием проточного цитометра Celesta (BD Biosciences). Геометрическую среднюю интенсивность флуоресценции (гСИФ) PE определяли для каждого антитела в каждой клеточной линии. Фоновую СИФ детектировали для изотипического контроля, а относительное связывание тестируемых антител измеряли как кратность изотипу.

### Результаты

Из гуманизированных антител против hLILRB2, протестированных на связывание и специфичность к hLILRB2, все антитела в высокой степени связывались с hLILRB2 и перекрестно не связывались ни с одним из десяти дополнительных членов семейства hLILR в клеточном анализе связывания (Фиг. 12).  $EC_{50}$  каждого антитела к LILRB2-экспрессирующим CHO-s находилась в субнаномолярном диапазоне (Фиг. 13).

### **Пример 10. Характеристика гуманизированных антител: блокирование клеток HLA-G и HLA-A2 в hLILRB2+ клетках**

Была оценена эффективность выбранных гуманизированных вариантов в блокировании взаимодействия HLA-G и HLA-A2 с hLILRB2, экспрессируемым первичными человеческими макрофагами. Первичные человеческие моноциты были дифференцированы в макрофаги в присутствии М-КСФ. После семи суток дифференцировки в 96-луночный круглодонный планшет для культивирования тканей с обработанной поверхностью высевали  $1 \times 10^5$  HMDM, и дважды промывали 1хDPBS (Gibco), а затем инкубировали с 50 мкл первичного антитела (мкАт против LILRB2 или контролем), приготовленного в буфере для FACS (1хDPBS, содержащий 2% HI-FBS (Sigma) + 0,05% азида натрия). После инкубации с мкАт в течение 30 минут при 4 °С клетки дважды промывали в буфере для FACS и затем ресуспендировали в 50 мкл буфера для FACS, содержащего 5 мкг/мл APC-конъюгированного тетрамера HLA-G или HLA-A2

(Fred Hutch). Клетки инкубировали защищенными от света месте в течение 30-60 минут при 4 °С. После инкубации с тетрамером клетки промывали в буфере для FACS и ресуспендировали в фиксированном буфере (1,5% параформальдегид, разведенный в 1хDPBS). Образцы анализировали с использованием проточного цитометра Celesta (BD Biosciences).

Как показано на Фиг. 14, все протестированные гуманизированные антитела против hLILRB2 блокировали взаимодействие HLA-G с экспрессируемым клетками hLILRB2 с EC<sub>50</sub> в наномолярном диапазоне. Значения EC<sub>50</sub> для каждого из протестированных вариантов показаны на Фиг. 11В. Контрольные антитела, включая изотипические контроли и неблокирующие лиганд химерные антитела против hLILRB2, не проявляли никакой активности в этом анализе.

Как показано на Фиг. 15, все протестированные гуманизированные антитела против hLILRB2 блокировали взаимодействие HLA-A2 с экспрессируемым клетками hLILRB2 с EC<sub>50</sub> в наномолярном диапазоне. Значения EC<sub>50</sub> для каждого из протестированных вариантов показаны на Фиг. 11В.

**Пример 11. Характеристика гуманизированных антител: биологическая активность гуманизированных мкАт против LILRB2 в культуре клеток**

Опухоль-ассоциированные макрофаги (TAM) демонстрируют функциональный статус активации, совместимый с M2-подобным, иммуносупрессивным макрофагом. Не желая ограничиваться какой-либо теорией, предполагается, что антагонизм ингибирующего рецептора LILRB2 на макрофагах предотвращает индукцию иммуносупрессивных макрофагов и способствует гипервоспалительным реакциям. Чтобы охарактеризовать функциональную активность антител против LILRB2, EC/IC<sub>50</sub> определяли как измерение активности мкАт против LILRB2, способных превращать M2 в M1-подобные макрофаги, в анализе высвобождения цитокинов человеческими макрофагами моноцитарного происхождения (HMDM). Антитела с субнаномолярной активностью (EC<sub>50</sub>) в этом анализе были обозначены как M1-стимулирующие мкАт.

Способы

После семи суток дифференцировки  $1 \times 10^5$  HMDM высевали на лунку в 96-луночный круглодонный планшет для культивирования ткани с обработанной поверхностью в конечном объеме 200 мкл, содержащем 100 нг/мл ЛПС в отсутствие или в присутствии мкАт в среде для культивирования клеток (RPMI (Gibco) + 10% FBS (Sigma)). После инкубации в течение 24 часов при 37 °С с 5% CO<sub>2</sub>, супернатант собирали и выполняли СВА в соответствии с протоколом производителя (BD Biosciences) для определения содержания цитокинов, продуцируемых в ответ на мкАт. Образцы анализировали с использованием цитометра Accuri C6 (BD Biosciences).

Результаты

Как показано на Фиг. 16А и 16В, все гуманизированные мкАт против hLILRB2 проявляли M1-стимулирующую активность, в то же время подавляя продукцию M2-ассоциированных цитокинов, включая ИЛ-10 и ССЛ-2. Было показано, что 67%

протестированных гуманизированных мкАт против hLILRB2 обладают субнанолярной активностью в этом анализе. Значения  $EC_{50}$  для каждого из протестированных вариантов показаны на Фиг. 10В.

**Пример 12. Характеристика гуманизированных антител: селективное связывание с LILRB2 примата, отличного от человека, (LILRBb)**

Для оценки гуманизированных мкАт на межвидовую реактивность, hLILRB2-специфические, лиганд-блокирующие мкАт оценивали в отношении дополнительного селективного связывания с предполагаемым LILRB2 макака-резуса (LILRBb), сверхэкспрессируемом на клетках, а не с близкородственными членами семейства LILR NHR.

Способы

Связывание мкАт против hLILRB2 с белком LILRB2 макака-резуса (LILRBb) оценивали путем инкубации клеток LILRBb-CHO с выбранными мкАт против hLILRB2 в течение 30 минут. После инкубации клетки промывали и инкубировали с анти-hIgG-APC (Jackson Labs) в соответствии с протоколом производителя. Связывание клеток оценивали с помощью проточной цитометрии с использованием проточного цитометра Celesta (BD Biosciences).

Результаты

Все гуманизированные мкАт против hLILRB2 связаны с LILRB2 макака-резуса (LILRBb) зависимым от дозы и специфическим образом (Фиг. 17А). Эти мкАт против hLILRB2 не связывали близкородственный белок LILRbA макака-резуса, экспрессируемый на клетках (Фиг. 17В).

**Пример 13. Анализ экспрессии генов: эксперименты по гистокультуре**

Свежие образцы опухоли почки человека были получены после оперативного вмешательства. Для каждой опухоли делали срез и фиксировали для ИГХ. Приблизительно 300-мкм срезы оставшейся опухоли были помещены в шестиугольный планшет. Указанные срезы добавляли в среду и планшеты инкубировали при 37 °С. Каждый срез обрабатывали 10 мкг/мл одного из шести лекарственных средств в течение 24 часов. Шесть обработок, включенных в эксперимент, включают J-19, J-17 и J-11 (все LILRB2-связывающие вещества и блокаторы лигандов), J-04 (LILRB2-связывающее вещество, которое не блокирует связывание лиганда), антитело против TIM3, и паливизумаб, который использовали в качестве отрицательного контроля.

Срезы опухоли лизировали с использованием процессора Qiagen TissueLyser, а зафиксированные в формалине и залитые парафином (FFPE) образцы депарафинизировали. РНК экстрагировали из FFPE и свежих образцов опухолей, количественно определяли с использованием Quibit и, в некоторых случаях, QC'd с использованием анализатора фрагментов ААТІ. Если из образца было экстрагировано достаточное количество РНК, экспрессию генов выполняли с использованием NanoString nCounter с использованием панели Human Immunology V2, а также с помощью специальной макрофаг-специфической добавки. Экспрессию генов нормировали к



экспрессии генов домашнего хозяйства, и с использованием данных от зондов отрицательного контроля определяли шумовое пороговое значение. Значения экспрессии гена преобразовали в  $\log_2$  шкалу, а данные от образцов, которые были обработаны LILRB2-связывающими веществами или антителами против TIM3, нормировали к данным от обработанного паливизумабом образца от того же пациента. На Фиг. 18 показано изменение экспрессии генов в ответ на обработку относительно контроля паливизумабом. Дифференциальную экспрессию генов относительно контроля паливизумабом количественно определяли в таблице 7 ниже. Каждый ген в перечне демонстрировал дифференциальную экспрессию по меньшей мере для двух обработок с номинальным р-значением менее 0,055. Кратное изменение экспрессии генов было или положительным для всех обработок, или отрицательным для всех обработок.

Таблица 7. Дифференциальная экспрессия генов в гистокультуре

Ген	J-04	J-17	J-11	J-19	TIM3
CD68	-0,29	-0,20	-0,24	-0,31	
CXCL9		0,98	0,80	0,72	0,67
G6PD		-0,21	-0,26	-0,25	-0,17
ИЛ-10	-0,41	-0,40	-0,37	-0,38	
ИЛ-6R	0,33	0,45	0,36	0,31	
ETS1	0,31	0,34			0,14
KCNJ2	0,55	0,49	0,82		
MASP1		0,46		0,36	0,32
ZEB1	0,33	0,41			0,21
BAT3			-0,15	-0,12	
CCL2		-0,50	-0,57		
CLEC4A			0,28	0,29	
CXCL11				0,93	0,78
GUSB		0,15		0,11	
IFITM1		0,48	0,42		
ИЛ-15			0,35		0,22
ИЛ-18R1		-0,22			-0,30
IRF1		0,47			0,39
ITGA6			0,39	0,29	
KLRC3	-0,44		-0,24		
PIGR		0,58		0,71	
PTPN22	-0,62		-0,21		
SDHA		0,25		0,20	
SLC2A1	0,27		0,45		
TAP1		0,24			0,24

На Фиг. 19 показана тепловая карта с иерархической кластеризацией, демонстрирующая  $\log_2$  (кратного изменения) экспрессии каждого гена (строки) в каждом обработанном образце (столбце). Каждый ген в перечне демонстрировал дифференциальную экспрессию по меньшей мере для двух обработок с номинальным  $p$ -значением менее 0,055. Экспрессия генов набора 1, как правило, подавляется в ответ на обработку (серые прямоугольники), а экспрессия генов набора 2, как правило, повышается в ответ на обработку (черные квадраты).

Показатель ответа для каждого образца рассчитывали путем сложения суммы  $\log_2$  (кратное изменение) поднабора генов в наборе 2 с отрицательной суммой  $\log_2$  (кратное

изменение) поднабора генов в наборе 1 и деления на количество включенных генов, согласно следующему уравнению:

ФД показатель

$$= \frac{1}{\text{Кол} - \text{во генов набора1} + \text{кол} - \text{во генов набора2}} \left( \sum_{\text{Набор2}} \log_2(\text{кратное изменение}) - \sum_{\text{Набор1}} \log_2(\text{кратное изменение}) \right)$$

На Фиг. 20 приведен показатель ответа для каждого донора на каждое лиганд-блокирующее лекарственное средство против LILRB2. Ответ на лечение одинаков для всех доноров, что позволяет классифицировать доноров по их ответу на лечение лекарственным средством против LILRB2. Доноры со средним показателем ответа более 0,5 классифицируются как «субъекты с полным клиническим ответом»; доноры со средним показателем ответа от 0,3 до 0,5 классифицируются как «субъекты с частичным клиническим ответом»; те, у кого показатели ниже 0,3, классифицируются как «субъекты с отсутствием клинического ответа».

Сигнатуры монокультуры были получены на основе среднего  $\log_2$  (кратное изменение) экспрессии генов у доноров в ответ на лиганд-блокирующие лекарственные средства против LILRB2, в отсутствие ЛПС через 4 часа и в присутствии ЛПС через 24 часа (Фиг. 21А и 21В). Показатели сигнатур монокультуры рассчитывали для каждого образца гистокультуры, обработанного лиганд-блокирующим лекарственным средством против LILRB2, путем проекции  $\log_2$  (кратное изменение) экспрессии гена на вектор, определенный по сигнатуре монокультуры. Показатели сигнатур монокультуры (четыре часа в отсутствие ЛПС и 24 часа в присутствии ЛПС) значительно выше ( $p < 0,01$ ) у субъектов с полным клиническим ответом по сравнению с субъектами с частичным клиническим ответом.

В целом, результаты для монокультуры показали, что LILRB2-связывающие лекарственные средства заставляют макрофаги дифференциально экспрессировать ряд генов у доноров. Набор генов, который был модулирован в этой системе, представляет собой сигнатуру монокультуры, которая включает как абсолютную величину, так и направленность. Чтобы подтвердить, что эти пути также будут модулироваться в более сложных системах, были проведены эксперименты по гистокультуре. Анализ данных для гистокультуры демонстрирует, что воздействие на срезы опухоли почки LILRB2-связывающих лекарственных средств приводит к повышенной экспрессии воспалительных хемокинов, а также к дифференциальной экспрессии известных миелоид-специфических генов. Эти гены совместно регулируются и только дифференциально экспрессируются в поднаборе образцов. Этот поднабор генов представляет собой сигнатуру ФД ответа, которая используется для вычисления показателей ответа и классификации образцов на основе ответа на лекарственные средства. Следует отметить, что доноры, которые отвечают на одно лекарственное средство против LILRB2, обычно

отвечают на все из них. Кроме того, когда данные гистокультуры проецировались на сигнатуру монокультуры, субъекты с клиническим ответом показали статистически значимые показатели для монокультуры. Таким образом, модуляция миелоид-специфических генов согласуется с результатами экспериментов *in vitro*, что позволяет предположить, что они воздействуют на одни и те же биологические пути.

#### **Пример 14. Токсикология**

Специфичность антител против LILRB2 определяли путем оценки связывания антител с эритроцитами и тромбоцитами при помощи проточной цитометрии или с сывороточными белками при помощи ИФА. В этих анализах не наблюдали никакого внецелевого связывания (Фиг. 22).

Потенциал антител против LILRB2 вызывать цитокиновый шторм оценивали в анализе высвобождения цитокинов в цельной крови человека с применением титрования растворимых антител. В анализе выполняли инкубацию в течение 24 часов при 37 °С. Затем выделяли плазму и измеряли цитокины с использованием панели MSD с 10-цитокинами. Данные представляют собой среднее +/- станд.откл. от трех доноров. Как показано на Фиг. 23А-23D, антитела против LILRB2 не проявляли индукцию цитокинов, связанных с цитокиновым штормом (например, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-18 или ФНО- $\alpha$ ) в этом анализе.

Потенциал антител против LILRB2 индуцировать активацию нейтрофилов оценивали в цельной крови человека с применением титрования растворимых антител. В анализе выполняли инкубацию в течение двух часов при 37 °С. Изменения в маркерах активации нейтрофилов (увеличение CD11b и снижение CD62L) оценивали с помощью проточной цитометрии. Данные представляют собой среднее +/- станд.откл. от 2 доноров. Антитела против LILRB2 не индуцировали активацию нейтрофилов, на что указывает низкая экспрессия CD11b (Фиг. 24А и 24В) и сохранение CD62L (Фиг. 24С и 24D).

#### **Пример 15. Фармакокинетика**

Яванские макаки (n=3 на группу) получали однократную внутривенную инфузию указанной концентрации антитела против LILRB2. Концентрации лекарственного средства в сыворотке измеряли с использованием электрохемилюминесцентного анализа, а результаты, приведенные на Фиг. 25, указывают на то, что для фармакокинетики однократной дозы у яванских макак отмечается период полувыведения, типичный для человеческих антител IgG4.

Чтобы оценить влияние антител против LILRB2 на популяции нейтрофилов, перед исследованием и после введения дозы антител против LILRB2 на яванских макаках был проведен анализ СВС. Как показано на Фиг. 26А и 26В нейтрофилы периферической крови оставались в пределах нормального диапазона и демонстрировали незначительную тенденцию к снижению.

#### **Пример 16. Эксперимент на мышах с нокаутом по Pirb**

Восьми-двенадцатинедельных гомозиготных мышей с нокаутом по Pirb или контролей дикого типа из одного помета инокулировали подкожно опухолевыми

клетками B16.S1Y ( $1 \times 10^6$ ), LLC ( $2 \times 10^5$ ) или MC38 ( $5 \times 10^5$ ). После обнаружения пальпируемых опухолей, за мышами наблюдали и по меньшей мере два раза в неделю фиксировали размеры опухолей, пока опухоли не превышали  $2000 \text{ мм}^3$  или у мышей не наблюдали снижение массы тела более чем на 20%. Некоторых мышей умерщвляли на ранних стадиях для анализа инфильтрирующих опухоль клеток. Все эксперименты проводили в соответствии с установленными руководящими принципами по уходу за животными и их использованию.

Опухоли были обнаружены у всех мышей дикого типа и они соответствовали кинетике роста согласно литературным данным в Jounce Therapeutics. Хотя между мышами дикого типа и мышами с нокаутом по Pirb не наблюдали значительного различия в росте опухолей B16.S1Y или LLC (Фиг. 27A, 27B, 28A и 28B), при нокауте по Pirb по сравнению с мышами дикого типа было обнаружено значительное уменьшение роста опухоли MC38 (Фиг. 29A и 29B). В анализе фенотип инфильтрирующих опухоль клеток MC38 соответствовал фенотипу ассоциированных с опухолью макрофагов, которые демонстрировали меньшие иммуносупрессивные характеристики (более низкий уровень ИЛ-4R) и повышенную способность к презентации антигена (более высокий уровень ГКГС класса II) у мышей с нокаутом по Pirb относительно контролей дикого типа (данные не показаны).

#### **Пример 17. Анализ методом аланинового сканирования**

Вариабельные области тяжелой цепи и легкой цепи J-19.h1 представлены на Фиг. 30. На Фиг. 30 подчеркиванием указана определяющая комплементарность область (CDR) тяжелой и легкой цепей J-19.h1, как установлено согласно определению CDR в Kabat. Ключевые связывающие остатки J-19.h1, необходимые для связывания мишени, LILRB2, были идентифицированы путем мутации отдельных остатков в CDR. Сканирование проводили путем мутации 34 остатков тяжелой цепи и 18 остатков легкой цепи в CDR по отдельности в аланин. Мутации в CDRL2 не были включены, так как не было определено, что эта область J-19.h1 способствует связыванию LILRB2. Полная мутация J-19.h1 в последовательности CDRL2 зародышевой линии не изменяла аффинность связывания с мишенью.

Все варианты транзientно получали в линии клеток яичника китайского хомячка и очищали с использованием цитратного буфера на автоматическом жидкостном манипуляторе. Аффинности определяли с помощью ForteBio Octet Red96. Варианты J-19.h1 нормировали до  $10 \text{ мкг/мл}$  и загружали в сенсоры Anti-Human Capture. Загруженные сенсоры затем пропитывали в буфере для кинетических исследований для установления базовой линии и погружали в лунки, содержащие LILRB2 в двух концентрациях:  $50 \text{ нМ}$  и  $5 \text{ нМ}$ , с последующей стадией диссоциации в буфер. Кинетические данные рассчитывали с использованием программного обеспечения для анализа данных ForteBio.

Полученные в результате аффинности варианты J-19.h1 к LILRB2 показали, что ключевые остатки, выделенные серым цветом, являются критическими для связывания LILRB2. Аланиновая мутация приводила к аффинности, которая была в 5 раз меньше, чем

для контроля, или приводила к полной отмене связывания. Остатки с пунктирным подчеркиванием имели аффинности в 2-5 раз отличающиеся от контроля. Все остальные остатки в CDR сохраняли сходную аффинность с LILRB2 при аланиновой мутации.

### Пример 18. Праймеры для кПЦР

Коммерчески доступные кПЦР-анализы для LILRB2 как от Applied Biosystems (TaqMan), так и от Biorad (PrimePCR) не показали специфичности для их мишени, когда прогоняли кДНК, полученную из РНК линий клеток со сверхэкспрессией члена LILR. Члены семейства LILR имеют высокую гомологию друг с другом, и поэтому наборы праймеров могут давать нежелательные эффекты во время ПЦР.

Следующие наборы праймеров были протестированы на линиях клеток со сверхэкспрессией, и при определенных условиях ПЦР один набор праймеров показал специфичность. Библиотеки кДНК получали с использованием как супермикса BioRad iScript Reverse Transcription Supermix, так и мастер-микса Fluidigm Reverse Transcription Master Mix. Наборы праймеров, когда они не дополнялись зондом, прогоняли с использованием супермикса BioRad SsoFast EvaGreen Supermix с низким ROX. Наборы праймеров с зондами прогоняли с использованием мастер-микса Applied Biosystems TaqMan Fast Advanced. Праймеры были заказаны у IDT как олигонуклеотиды, а зонды были помечены FAM.

Таблица 8. Последовательности праймеров и зондов

	Прямой праймер	Обратный праймер	Зонд (если есть)
Набор 1	CACACAGCTCAACCT GGACA	TGGGTAGGCTCCTG TCATCA	
Набор 2	AGCTCAACCTGGACA GCAC	CTTGGGGATGGTCC CTGTCT	
Набор 3	ACACACAGCTCAACC TGGAC	CAGGCAGACTCAGA TCAGCA	
Набор 4	CACACAGCTCAACCT GGACA	CTGCAGGCAGACTC AGATCA	
Набор 5	CCTGCATTTCTCCTCT GTGC	CTGTCCAGGTTGAG CTGTGT	
Набор 6	TCGCACAGGTGCTAT GGTTA	GCACTGAGAGTGAT GGCTTCTTA	
Набор 7	AGTAGAAGGAGACTC AGGACTG	TCCCAAAGTTCCCA GCATC	AGCCTGGACCCCTAAC AAAGACC
Набор 8	TTCCACACTTTCCTTC TGACC	GGGAATTCAGCCTG GTACTTAG	TGCCCCACTCCGTCTAA GATCAATACA
Набор	CGTCACCSTCAGTTG	TCCGTGTAATCCAA	CCTTGAAGCCCAGGAG

9	TCAG	GATGCTG	TACCGTCTA
Набор 10	CCTACTTCCCTGCATT TCTCC	CAGGCAGACTCAGA TCAGC	AGCTCAACCTGGACGG CACA
Набор 11	TTCTTCCCCTACTTCC CTGCATTTTC	CTTCAAGGCTCCCC TGACAAC	
Набор 12	GAAGTCAACTTTTCTT CCCCTAC	CAAGGCTCCCCTGA CAACT	
Набор 13	CACACAGCTCAACCT GGACA	AGACTCAGCCCGAG ACAGAT	
Набор 14	GTCAACTTTTCTTCCC CTACTTC	AAGGCTCCCCTGAC AACTG	
Набор 15	AAGAAGCCATCACTC TCAGTGC	GTAGGAGCGGCTCA CAGG	

Прямые праймеры для наборов 1-15 представляют собой SEQ ID NO: 135-149; обратные праймеры для наборов 1-15 представляют собой SEQ ID NO: 150-164; зонды для наборов 7-10 представляют собой SEQ ID NO: 165-168; каждый в порядке, указанном в таблице 8.

Приведенный выше набор 9 оказался специфическим для LILRB2 в анализе линий клеток со сверхэкспрессией множества членов LILR при проведении анализа TaqMan (как с мастер-миксом Applied Biosystems, так с мастер-миксом IDT GE), а также в анализе с использованием набора праймеров и красителя EvaGreen (мастер-микс BioRad). Следующие условия цикла ПЦР были следующими: цикл 1: 95 °C в течение 60 секунд; цикл 2: 96 °C в течение 5 секунд; цикл 3: 65 °C в течение 20 секунд; повторение циклов 2-3 в течение 40 циклов в общем; кривая плавления для реакционной смеси EvaGreen составляла 60-95 °C. Последовательности праймеров и зондов: прямой: CGTCACCCTCAGTTGTCAG (SEQ ID NO: 143); обратный: TCCGTGTAATCCAAGATGCTG (SEQ ID NO: 158); зонд: CCTTGAAGCCCAGGAGTACCGTCTA (SEQ ID NO: 167).

Добавление до 5 нуклеотидов к любому концу праймеров не должно влиять на специфичность ПЦР в соответствии с инструментом ПЦР In-Silico UCSC (жирным шрифтом обозначен набор праймеров, подтвержденный при помощи анализа «мокрым» путем).

[https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?hgsid=693240227\\_npi8w0U7mF4EWHuVaOYA4nIqdsZ](https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?hgsid=693240227_npi8w0U7mF4EWHuVaOYA4nIqdsZ) AGTCC-  
CGTCACCCTCAGTTGTCAG-GGGAG (SEQ ID NO: 169); TCGTA-  
TCCGTGTAATCCAAGATGCTG-ATTTT (SEQ ID NO: 170).

#### **Пример 19. Анализ ФД показателей сигнатуры свежих образцов опухолей**

Свежие образцы опухоли человека были получены после оперативного вмешательства. Для каждой опухоли делали срез и фиксировали для ИГХ. 300-мкм срезы

оставшейся опухоли были помещены в 6-луночный планшет. Срезы добавляли в среду и планшеты инкубировали при 37 °С. Срезы опухоли хранили в RNeasy Lysis Buffer после инкубации. Каждый срез обрабатывали 10 мкг/мл лекарственного средства в течение 24 часов; в тех случаях, когда образцы обрабатывали более чем одним лекарственным средством, использовали 10 мкг/мл каждого лекарственного средства.

Срезы опухоли лизировали с использованием процессора Qiagen RNeasy Lysis Buffer, а FFPE образцы депарафинизировали. РНК экстрагировали из FFPE и свежих образцов опухолей, количественно определяли с использованием Qubit и QC'd с использованием анализатора фрагментов AATI. Если из образца было экстрагировано достаточное количество РНК, экспрессию генов выполняли с использованием NanoString nCounter с использованием панели Human Immunology V2, а также с помощью специальной макрофаг-специфической добавки. Экспрессию генов нормировали к экспрессии генов домашнего хозяйства, затем с использованием данных от зондов отрицательного контроля определяли шумовое пороговое значение и данные были преобразованы в log<sub>2</sub> шкалу. В дальнейшем эти данные будут называться «нормированной экспрессией генов». Нормированные данные по экспрессии генов затем дополнительно нормировали к средним данным из обработанных паливизумабом образцов от того же пациента. В дальнейшем эти данные будут называться «паливизумаб-нормированной экспрессией генов».

Фармакодинамические (ФД) показатели сигнатуры рассчитывали для каждого образца. Сигнатуры монокультуры получены из среднего log<sub>2</sub> (кратное изменение по сравнению с образцами, обработанными паливизумабом) в экспрессии генов для макрофагов моноцитарного происхождения от 4 доноров в ответ на блокирующие лиганд лекарственные препараты против LILRB2, в отсутствие ЛПС через 4 часа. «Показатели сигнатуры монокультуры» рассчитывали для каждого обработанного образца гистокультуры путем проецирования паливизумаб-нормированной экспрессии гена на вектор, определенный по сигнатуре монокультуры. «Показатели сигнатуры ИФН- $\gamma$ » рассчитывали путем усреднения паливизумаб-нормированной экспрессии 6 генов, идентифицированных Hirsch et al. (32<sup>nd</sup> Annual Meeting and Pre-Conference Programs of the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC 2017): Part One, P39; J. Immunother. Cancer 5 (Suppl. 2):86, 2017), отображающий модулированную экспрессию в ответ на обработку антителом против PD1. «Показатели сигнатуры Keytruda » рассчитывали путем усреднения паливизумаб-нормированной экспрессии 18 генов, определенных Ayers et al. (J. Clin. Invest. 127: 2930-2940, 2017) как прогностические факторы клинического ответа на пембролизумаб.

Для оценки шума в системе и определения пороговых значений ответа 173 среза опухолей (образцов) из 80 опухолей почки, легкого и головы и шеи обрабатывали контрольным антителом паливизумабом в течение 24 часов. По меньшей мере два образца из каждой опухоли обрабатывали паливизумабом. Шумовое пороговое значение для каждой сигнатуры ФД ответа было определено как 95-й процентиль распределения



показателей сигнатуры по 173 образцам. Опухоли классифицируются как «отвечающие на лечение» конкретным лекарственным средством, если средний ФД показатель сигнатуры для всех образцов из этой опухоли, обработанной этим лекарственным средством, превышает шумовое пороговое значение для этой сигнатуры.

Были охарактеризованы исходные (необработанные) образцы от большинства опухолей. Специфические для типа клеток сигнатуры рассчитывали путем усреднения нормированной экспрессии генов, которые связаны с конкретными типами клеток. Сигнатуру Keytruda рассчитывали для каждого исходного образца путем усреднения нормированной экспрессии генов из 18 генов, определенных Ayers et al. (выше) как прогностические факторы клинического ответа на пембролизумаб.

Результаты экспериментов, описанных выше, показаны на Фиг. 31-34.

На Фиг. 31 представлена гистограмма ФД показателей ИФН- $\gamma$  ответа из 173 образцов опухолей из 80 опухолей, обработанных паливизумабом в течение 24 часов. В каждой опухоли по меньшей мере два образца обрабатывали паливизумабом. Шумовое пороговое значение для сигнатуры определяют как 95-й перцентиль распределения. Для сигнатуры ИФН- $\gamma$  шумовое пороговое значение составляет 0,43.

На Фиг. 32 представлена диаграмма Венна и диаграмма, описывающая частоту ФД ответа на J-19.h1 по 3 показаниям: почечно-клеточный рак, рак головы и шеи и рак легкого. Опухоли классифицируются как «отвечающие на лечение», если средний ФД показатель ответа по всем срезам, обработанным J-19.H1 для этой опухоли, превышает шумовое пороговое значение. Как отмечалось выше, шумовое пороговое значение для каждой ФД сигнатуры определяется как 95-й перцентиль распределения ФД показателей ответа образцов, обработанных паливизумабом, по опухолям с более чем одним образцом, обработанным паливизумабом. В гистокультуре J-19.H1 индуцирует разные ФД ответы по всем признакам, указывая на многочисленные механизмы действия: сигнатура монокультуры указывает на поляризацию макрофагов; сигнатура ИФН-гамма предполагает сходный ответ на ингибиторы контрольных точек; сигнатура Keytruda является признаком опухолевого примирения для ответа на ингибиторы контрольной точки.

На Фиг. 33 представлена серия графиков, на которых показаны показатели сигнатур Keytruda, рассчитанные для необработанных образцов, на основе нормированной экспрессии генов (необработанные данные экспрессии гена нормируют относительно генов домашнего хозяйства и зондов отрицательного контроля, затем трансформируют при помощи  $\log_2$ ). Опухоли классифицируют как ИФН- $\gamma$  ФД отвечающие на лечение, если средний ответ всех образцов в этой опухоли, обработанной J-19.H1, больше, чем шумовое пороговое значение сигнатуры ИФН- $\gamma$ . Каждая точка представляет показатель сигнатуры Keytruda необработанного образца опухоли. Пунктирными линиями показан средний базовый показатель сигнатуры Keytruda для образцов, представленных для каждого показания. Исходный показатель сигнатуры Keytruda является необходимым, но недостаточным условием для ФД ответа ИФН-гамма на пембролизумаб в гистокультуре,

что согласуется с клиническими наблюдениями, о которых сообщают другие исследователи, что позволяет предположить актуальность модели гистокультуры для клинических результатов.

На Фиг. 34, левая панель, представлена таблица, в которой приведены средние ФД показатели сигнатуры ИФН- $\gamma$ , рассчитанные для 18 опухолей головы и шеи в ответ на J-19.h1, пембролизумаб или J-19.H1 в комбинации с пембролизумабом. Клетки, выделенные серым цветом, указывают на опухоли, для которых ответ на обработку превышает шумовое пороговое значение. Строки со звездочкой рядом с ними обозначают опухоли, для которых J-19.h1 усиливает ответ; то есть, ФД показатель сигнатуры ИФН- $\gamma$  в ответ на J-19.H1+пембролизумаб больше или равен показателю в ответ на только пембролизумаб+0,43 (шумовое пороговое значение для ИФН- $\gamma$  ФД сигнатуры). Опухоли, которые имеют усиленный ответ с J-19.H1, на правой панели упоминаются как имеющие «комбинированный эффект». На Фиг. 34, правая панель, представлен график, демонстрирующий сравнение нормированного по показаниям содержания опухолевых макрофагов в опухолях до лечения. На графике показано исходное содержание макрофагов в опухолях, которые проявляют комбинированный эффект в ответ на J-19.H1+пембролизумаб по сравнению с теми, которые не демонстрируют какого-либо усиления из-за J-19.H1. Сравнение сделано для опухолей по 3 показаниям: почечно-клеточный рак, рак легкого и рак головы и шеи. Содержание макрофагов в опухоли рассчитывают путем усреднения экспрессии генов, связанных с макрофагами, в необработанных образцах и нормируют в пределах каждого показания. ИФН-гамма ФД ответ на пембролизумаб в гистокультуре усиливается J-19.H1 в образцах, обогащенных макрофагами.

#### **Пример 20. Мутантные антитела**

Варибельная область тяжелой цепи J-19.h1 представлена ниже:

QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIRQPPGKALEWLAŞIWW  
NGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYCYCAHSRIIRKFTDYVMDA  
 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 53)

CDRH1, CDRH2 и CDRH3 указаны подчеркиванием по порядку. **R\*** обозначает остаток в CDRH3, для которого при аланиновой мутации (J-19.h5) измеряется более высокая аффинность к LILRB2 по сравнению с J-19.h1. Ее измеряли с помощью ForteBio Octet Red96. Вариант нормировали до 10 мкг/мл и загружали в сенсор Anti-Human Capture. Загруженный сенсор затем пропитывали в буфере для кинетических исследований для установления базовой линии и погружали в лунки, содержащие LILRB2 в двух концентрациях: 50 нМ и 5 нМ, с последующей стадией диссоциации в буфер. Кинетические данные рассчитывали с использованием программного обеспечения для анализа данных ForteBio. Результаты продемонстрировали, что J-19.h5 имеет в два раза более высокую аффинность к LILRB2 по сравнению с немутантной версией J-19.h1.

Дополнительные варианты были сделаны из J-19.h1, в котором аргинин был мутирован в аспартат (J-19.h6) и глутамат (J-19.h7). Все варианты транзигентно получали с

использованием линии клеток яичника китайского хомячка и очищены с использованием цитратного буфера на автоматическом жидкостном манипуляторе. Аффинность к LILRB2 измеряли точно так же, как ранее к J-19.h5. Данные показали, что эти два варианта имеют еще большую аффинность к LILRB2 по сравнению с J-19.h1 и J-19.h5.

Аффинности к четырем антителам (J-19.h1, J-19.h5, J-19.h6 и J-19.h7) были подтверждены с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР) с использованием SierraSensor Mass-2. Антитела были захвачены с использованием чипа с антителами против Fc человека в концентрации 2 мкг/мл. LILRB2 пропускали через захваченные антитела в семи концентрациях (65, 21,67, 7,22, 2,41, 0,802, 0,267, 0,089 нМ). J-19.h5 и J-19.h6 анализировали в трех повторностях, а J-19.h7 и J-19.h1 анализировали в двух повторностях. Ниже приведена таблица, описывающая ассоциацию, диссоциацию и Kd четырех антител.

Таблица 9. Кинетические измерения J-19.h1 и мутантов с более высокой аффинностью

Аналит	Лиганд	Ka (1/Мс)	Kd (1/с)	KD (М)	Репликации	Кратность разницы относительно J-19.h1
LILRB2	J-19.h5	8.76E+05	1.15E-03	1.31E-09	3	1,91
	J-19.h6	8.25E+05	5.92E-04	7.18E-10	3	3,47
	J-19.h7	8.65E+05	7.88E-04	9.12E-10	2	2,73
	J-19.h1	7.05E+05	1.76E-03	2.49E-09	2	1

Таблица 10. Таблица последовательностей

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
1	Тяжелая цепь J-11.h	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYILTGYWIE WVKQRPGHGLEWIGEILPGSGSTNYNENFKGKATF TADTSSNTAYMQLSSLTTEDSAIYYCARAVLGYFD YWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN

		NYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
2	Легкая цепь J-11.h	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGT DYTLTISSVQAEDLALYCHQHYSTYTFGGGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
3	V <sub>H</sub> J-11.h	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYILTGYWIE WVKQRPGHGLEWIGEILPGSGSTNYNENFKGKATF TADTSSNTAYMQLSSLTTEDSAIYYCARAVLGYFD YWGQGTTLTVSS
4	V <sub>L</sub> J-11.h	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGT DYTLTISSVQAEDLALYCHQHYSTYTFGGGTKLEI K
5	J-11.h CDR-H1	GYWIE
6	J-11.h CDR-H2	EILPGSGSTNYNENFKG
7	J-11.h CDR-H3	AVLGYFDY
8	J-11.h CDR-L1	KASQDVSTAVA
9	J-11.h CDR-L2	WASTRHT
10	J-11.h CDR-L3	HQHYSTYT
11	Тяжелая цепь J-19.h	QVTLKESGPGILQPSHTLSLTCSFSGFSLNTYAMGV SWIRQPSGKGLEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLT VSKDTSNNQAFKVTSDTADTATYYCAHSRIIRFT DYVMDAWGQGASVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPK SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN

		GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
12	Легкая цепь J-19.h	DIQMTQSPASLSTFLGEPVTIECRASEDIYNDLAWYQQKPGKSPQLLIYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDVASYFCQQYYDYPLTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
13	V <sub>H</sub> J-19.h	QVTLKESGPGILQPSHTLSLTCSFSGFSLNTYAMGVSWIRQPSGKGLEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVSKDTSNNQAFKVTSDTADTATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGASVTVSS
14	V <sub>L</sub> J-19.h	DIQMTQSPASLSTFLGEPVTIECRASEDIYNDLAWYQQKPGKSPQLLIYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDVASYFCQQYYDYPLTFGSGTKLEIK
15	CDR-H1 J-19.h	TYAMGVS
16	CDR-H2 J-19.h	SIWWNGNKYNNPSLKS
17	CDR-H3 J-19.h	SRIIRFTDYVMDA
18	CDR-L1 J-19.h	RASEDIYNDLA
19	CDR-L2 J-19.h	NANSLHT
20	CDR-L3 J-19.h	QQYYDYPLT
21	Тяжелая цепь J-17.h	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGLSWVKQTPGKGLKWMGWINTYSGVPTYTDDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNPKNEDTATYFCARPYDFDQVGFAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNPKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

22	Легкая цепь J-17.h	SIVMTQTPKFLLVSAGDRVSITCKASQTVSSDVAW YQQKAGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTD FTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSSPFTFGGGSKLEI KRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
23	V <sub>H</sub> J-17.h	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGLSW VKQTPGKGLKWMGWINTYSGVPTYTDDFKGRFAF SLETSASTAYLQINN LKNEDTATYFCARPYDFDQV GFAYWGQGTLVTVA
24	V <sub>L</sub> J-17.h	SIVMTQTPKFLLVSAGDRVSITCKASQTVSSDVAW YQQKAGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTD FTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSSPFTFGGGSKLEI K
25	CDR-H1 J-17.h	TYGLS
26	CDR-H2 J-17.h	WINTYSGVPTYTDDFKG
27	CDR-H3 J-17.h	PYDFDQVGFAY
28	CDR-L1 J-17.h	KASQTVSSDVA
29	CDR-L2 J-17.h	YASNRYT
30	CDR-L3 J-17.h	QQDYSSPFT
31	Тяжелая цепь J-04	QVQLQQSGAELVRPGASVTL SCKASGYTFADYEIH WVKQTPVHGLEWIG AIDPETGGTAYNQKFKGKAIL TADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTRYDYDD AMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTV PSSLGKTYTCNV DHKPSN TKVDKR VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

32	Легкая цепь J-04	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVSFMHWY QQKSGTSPKRWIYGTSKLAGVPARFSGSGSGTSYS LTISSMEAEDAATYYCQQWNGNPFTFGSGTKLETK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
33	V <sub>H</sub> J-04	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCASGYTFADYEIH WVKQTPVHGLEWIGAIIDPETGGTAYNQKFKGKAIL TADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTRYDYDD AMDYWGQGTSTVSS
34	V <sub>L</sub> J-04	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVSFMHWY QQKSGTSPKRWIYGTSKLAGVPARFSGSGSGTSYS LTISSMEAEDAATYYCQQWNGNPFTFGSGTKLETK
35	J-04 CDR-H1	DYEIH
36	J-04 CDR-H2	AIDPETGGTAYNQKFKG
37	J-04 CDR-H3	YYDYDDAMDY
38	J-04 CDR-L1	SASSSVFMH
39	J-04 CDR-L2	GTSKLAG
40	J-04 CDR-L3	QQWNGNPFT
41	Тяжелая цепь J-03	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCASGYKFTDYEM HWVKQTPVHGLEWIGAIIDPETNGTAYNKKFKGKA ILTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTRGDYDFS AWFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLSLGLK
42	Легкая цепь J-03	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYDISF

		MHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGSGS RTDFTLTINPVETDDVATYYCQQSNKDPRTFGGGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
43	V <sub>H</sub> J-03	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYKFTDYEM HWVKQTPVHGLEWIGAIDPETNGTAYNKKFKGKA ILTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTRGDYDFS AWFAYWGQGTLVTVSA
44	V <sub>L</sub> J-03	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYDISF MHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGSGS RTDFTLTINPVETDDVATYYCQQSNKDPRTFGGGT KLEIK
45	CDR-H1 J-03	DYEMH
46	CDR-H2 J-03	AIDPETNGTAYNKKFKG
47	J-03 CDR-H3	GDYDFSAWFAY
48	J-03 CDR-L1	RASESVDNYDISFMH
49	CDR-L2 J-03	RASNLES
50	CDR-L3 J-03	QQSNKDPRT
51	Тяжелая цепь J-19.h1	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLTMNMDPVDATYYCAHSRIIRF TDYVMDAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
52	Легкая цепь J-19.h1	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY



		QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
53	V <sub>H</sub> J-19.h1	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWVWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYCAHSRIIRF TDYVMDAWGQGTLLTVSS
54	V <sub>L</sub> J-19.h1	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGKLEIK
55	CDR-H1 J-19.h1	TYAMGVS
56	CDR-H2 J-19.h1	SIWVWNGNKYNNPSLKS
57	CDR-H3 J-19.h1	SRIIRFTDYVMDA
58	CDR-L1 J-19.h1	RASEDIYNDLA
59	CDR-L2 J-19.h1	NANSLHT
60	CDR-L3 J-19.h1	QQYYDYPLT
61	Тяжелая цепь J-19.h2	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWVWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYCAHSRIIRF TDYVMDAWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
62	Легкая цепь J-19.h2	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPQLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDY

		TLTISTLQPEDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSS TLTISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
63	V <sub>H</sub> J-19.h2	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCAHSRIIRF TDYVMDAWGQGTLTVSS
64	V <sub>L</sub> J-19.h2	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDY TLTISTLQPEDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK
65	CDR-H1 J-19.h2	TYAMGVS
66	CDR-H2 J-19.h2	SIWWNGNKYNNPSLKS
67	CDR-H3 J-19.h2	SRIIRFTDYVMDA
68	CDR-L1 J-19.h2	RASEDIYNDLA
69	CDR-L2 J-19.h2	NANSLHT
70	CDR-L3 J-19.h2	QQYYDYPLT
71	Тяжелая цепь J-19.h3	QVTLKESGPSLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMG VSWIRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRL TITKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCAHSRIIR FTDYVMDAWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
72	Легкая цепь J-19.h3	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDY TLTISTLQPEDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK

		RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS TLTSLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
73	V <sub>H</sub> J-19.h3	QVTLKESGPSLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMG VSWIRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRL TITKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCAHSRIIR FTDYVMDAWGQGTTVTVSS
74	V <sub>L</sub> J-19.h3	DIVMTQSPSSLSASVGDTVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDY TLTISTLQPEDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK
75	CDR-H1 J-19.h3	TYAMGVS
76	CDR-H2 J-19.h3	SIWWNGNKYNNPSLKS
77	CDR-H3 J-19.h3	SRIIRFTDYVMDA
78	CDR-L1 J-19.h3	RASEDIYNDLA
79	CDR-L2 J-19.h3	NANSLHT
80	CDR-L3 J-19.h3	QQYYDYPLT
81	Тяжелая цепь J-19.h4	QVTLKESGPALVKPTHHTLTLTCTFSGFSLNTYAMG VSWIRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRL TISKDTSKNQVVLMTNMDPEDTATFYCAHSRIIRF TDYVMDAWGRGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
82	Легкая цепь J-19.h4	DIVMTQSPSSLSASVGDTVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDY TLTISTLQPEDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE

		AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
83	V <sub>H</sub> J-19.h4	QVTLKESGPALVKPTH <sub>TLTLTCTFSGFSLNTYAMG</sub> VSWIRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRL TISKDTSKNQVVL <sub>TMTNMDPEDTATFYCAHSRIIRF</sub> TDYVMDAWGRGTTVTVSS
84	V <sub>L</sub> J-19.h4	DIVMTQSPSSLSASVGDTVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDY TLTISTLQPEDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK
85	CDR-H1 J-19.h4	TYAMGVS
86	CDR-H2 J-19.h4	SIWWNGNKYNNPSLKS
87	CDR-H3 J-19.h4	SRIIRFTDYVMDA
88	CDR-L1 J-19.h4	RASEDIYNDA
89	CDR-L2 J-19.h4	NANSLHT
90	CDR-L3 J-19.h4	QQYYDYPLT
91	Тяжелая цепь J-19.h5	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVL <sub>TMTNMDPVDATYYCAHSRIIAF</sub> TDYVMDAWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTV <sub>PSSSLGKTYTCNV<sub>DHK</sub></sub> PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
92	Легкая цепь J-19.h5	DIQMTQSPSSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS

		TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
93	V <sub>H</sub> J-19.h5	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWVWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLTMNMDPVDATATYYCAHSRIIAF TDYVMDAWGQGTLVTVSS
94	V <sub>L</sub> J-19.h5	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGTKLEIK
95	CDR-H1 J-19.h5	TYAMGVS
96	CDR-H2 J-19.h5	SIWVWNGNKYNNPSLKS
97	CDR-H3 J-19.h5	SRIIAFTDYVMDA
98	CDR-L1 J-19.h5	RASEDIYNDA
99	CDR-L2 J-19.h5	NANSLHT
100	CDR-L3 J-19.h5	QQYYDYPLT
101	Тяжелая цепь J-19.h6	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWVWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLTMNMDPVDATATYYCAHSRIIDF TDYVMDAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
102	Легкая цепь J-19.h6	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG

		EC
103	V <sub>H</sub> J-19.h6	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWVWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHSRIIDF TDYVMDAWGQGTLVTVSS
104	V <sub>L</sub> J-19.h6	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGGTKLEIK
105	CDR-H1 J-19.h6	TYAMGVS
106	CDR-H2 J-19.h6	SIWVWNGNKYNNPSLKS
107	CDR-H3 J-19.h6	SRIIDFTDYVMDA
108	CDR-L1 J-19.h6	RASEDIYNDLA
109	CDR-L2 J-19.h6	NANSLHT
110	CDR-L3 J-19.h6	QQYYDYPLT
111	Тяжелая цепь J-19.h7	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWVWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHSRIIEF TDYVMDAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
112	Легкая цепь J-19.h7	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

113	V <sub>H</sub> J-19.h7	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGV SWIRQPPGKALEWLASIWVWNGNKYNNPSLKSRLT VTKDTSKNQVVLTMTNMDPVDATYYCAHSRIIEF TDYVMDAWGQGTLTVSS	
114	V <sub>L</sub> J-19.h7	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWY QQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDF TFTISSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGTKLEIK	
115	CDR-H1 J-19.h7	TYAMGVS	
116	CDR-H2 J-19.h7	SIWVWNGNKYNNPSLKS	
117	CDR-H3 J-19.h7	SRIIEFTDYVMDA	
118	CDR-L1 J-19.h7	RASEDIYNDLA	
119	CDR-L2 J-19.h7	NANSLHT	
120	CDR-L3 J-19.h7	QQYYDYPLT	
<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Белок</b>	<b>Номер доступ а</b>	<b>Последовательность</b>
121	LILRA1	O7501 9	MTPIVTVLICLRSLGPRTHVQAGTLPKPTLWAEPG SVITQGSPVTLWCQGILETQEYRLYREKKTAPWITR IPQEIVKKGQFPPIPSITWEHTGRYRCFYGSHTAGWS EPSDPLELVVTGAYIKPTLSALPSPVVTSGGNVTLH CVSQVAFGSFILCKEGERDEHPQCLNSQPRTHGWSR AIFSVGPVSPSRRWSYRCYAYDSNSPHVWSLPSDL LELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPGESLTLQCVSDV SYDRFVLYKEGERDFLQLPGPQPQAGLSQANFTLG PVSRSYGGQYRCSGAYNLSSEWSAPSDPLDILIAGQ FRGRPFISVHPGPTVASGENVTLLCQSWGPFHTFLL TKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFFMSPV TSAHS GTYRCYGSLSSNPYLLSHPSDSLELMVSGAAETLSP PQNKSDSKAGAANTLSPSQNK TASHPQDYTVENLI RMGIAGLVLVVLGILLFEAQHSQRSL
122	LILRA2	Q8N14 9	MTPILTVLICLGLSLGPRTHVQAGHLPKPTLWAEPG SVIIQGSPVTLRCQGSQAEEYHLYRENKSASWVR RIQEPGKNGQFPPIPSITWEHAGRYHCQYYSHNHSSE

			<p>YSDPLELVVTGAYSKPTLSALPSPVVTLGGNVTLQ  CVSQVAFDGFILCKEGEDHPQRLNSHSHARGWS  WAIFSVGPVSPSRRWSYRCYAYDSNSPYVWSLPSD  LLELLVPGVSKKPSLSVQPGPMVAPGESLTLQCVS  DVGYDRFVLYKEGERDFLQRPGWQPQAGLSQANF  TLGPVSPSHGGQYRCYSAHNLSSEWSAPSDPLDILI  TGQFYDRPSLSVQPVPTVAPGKNVTLLCQSRGQFH  TFLLTKEGAGHPPLHLRSEHQAQQNQAEFMGPVT  SAHVGTYRCYSSLSSNPYLLSLPSDPLELVVSEAAE  TLSPSQNKTDSTTTSLGQHPQDYTVENLIRMGVAG  LVLVVLGILLFEAQHSQRSLQDAAGR</p>
123	LILRA3	Q8N6C 8	<p>MTPILTVLICLGLSLDPRTHVQAGPLPKPTLWAEPG  SVITQGSPVTLRCQGSLETQEYHLYREKKTALWITR  IPQELVKKGQFPILSITWEHAGRYCCIIYGSHTAGLSE  SSDPLELVVTGAYSKPTLSALPSPVVTSGGNVTIQC  DSQVAFDGFILCKEGEDHPQCLNSHSHARGSSRAI  FSVGPVSPSRRWSYRCYGYDSRAPYVWSLPSDLLG  LLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGEKLTFCGSDAG  YDRFVLYKEWGRDFLQRPGRQPQAGLSQANFTLG  PVRSYGGQYTCSGAYNLSSEWSAPSDPLDILITGQ  IRARPFLSVRPGPTVASGENVTLLCQSQGGMHTFLL  TKEGAADSPLRLKSKRQSHKYQAEFPMSPVTSAHA  GTYRCYGSLSSNPYLLTHPSDPLELVVSGAAETLSP  PQNKSDSKAGE</p>
124	LILRA4	P59901	<p>MTLILTSLLFFGLSLGPRTRVQAENLPKPIWAEPPG  VITWHNPVTIWCQGTLEAQQYRLDKEGNSMSRHIL  KTLESENKVKLSIPSMWEHAGRYHCYYQSPAGW  SEPSDPLELVVTAYSRTLSALPSPVVTSGVNVTLR  CASRLGLGRFTLIEEGDHRLSWTLNSHQHNHGKFKQ  ALFPMGPLTFSNRGTFRCYGYENNTPYVWSEPSDP  LQLLVSGVSRKPSLLTLQGPVVTGENLTLQCGSD  VGYIRYTYLYKEGADGLPQRPGRQPQAGLSQANFTL  SPVRSYGGQYRCYGAHNVSSEWSAPSDPLDILIAG  QISDRPSLSVQPGPTVTSGEKVTLQCQSWDPMFTFL  LTKEGAAHPPLRLRSMYGAHKYQAEFPMSPVTS</p>



			HAGTYRCYGRSSNPYLLSHPSEPLELVVSGATETL NPAQKKSDSKTAPHLQDYTVENLIRMGVAGLVLLF LGILLFEAQHSQRSPPRCSQEANSRKDNAPFRVVEP WEQI
125	LILRA5	A6NI7 3	MAPWSHPSAQLQPVGDAVSPALMVLLCGLSLG PRTHVQAGNLSKATLWAEPGSVISRGNSVTIRCQG TLEAQEYRLVKEGSPEPWDTQNPLEPKNKARFSIPS MTEHHAGRYRCYYYSPAGWSEPSDPLELVVTGFY NKPTLSALPSPVVTSGENVTLQCGSRLRFDRFILTEE GDHKLSWTLDSQLTPSGQFQALFPVGPVTPSHRW MLRCYGSRRHILQVWSEPSDLLEIPVSGAADNLSPS QNKSDSGTASHLQDYAVENLIRMGGMAGLILVVLGI LIFQDWHSQRSPQAAAGR
126	LILRA6	Q6PI73	MTPALTALLCGLSLGPRTRVQAGPFPKPTLWAEP GSVISWGWSPVTIWCQGSLEAQEYQLDKEGSPEPLD RNNPLEPKNKARFSIPSMQHHAGRYRCHYYSSAG WSEPSDPLELVMTGFYNKPTLSALPSPVVASGGNM TLRCGSQKGYHHFVLMKEGEHQLPRTLDSQQLHS GGFQALFPVGPVTPSHRWRFTCYYYTNTPRVWS HPSDPLEILPSGVSRKPSLLTLQGPVLAPGQSLTLQC GSDVGYDRFVLYKEGERDFLQRPQQPQAGLSQA NFTLGPVSPSHGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLN ILMAGQIYDTVSLSAQPGPTVASGENVTLLCQSRG YFDTFLLTKEGAAHPPLRLRSMYGAHKYQAEFPMS PV TSAHAGTYRCYGSYSSNPHELLSFSEPLELMVSG HSGGSSLPPTGPPSTPASHAKDYTVENLIRMGGMAG LVLVFLGILLFEAQHSQRNPQDAAGR
127	LILRB1	Q8NH L6	MTPILTVLICLGLSLGPRTHVQAGHLPKPTLWAEPG SVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTALWIT RIPQELVKKGQFPPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGR SESSDPLELVVTGAYIKPTLSAQSPVVNSGGNVIL QCDSQVAFDGFSLCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSS RAIFSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSD LLELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPEETLTLQCGSD AGYNRFVLYKDGERDFLQLAGAQPQAGLSQANFT

			<p>LGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILIA  GQFYDRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGWMQ  TFLLTKEGAADDPWRLRSTYQSQKYQAEFFMGPV  TSAHAGTYRCYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPS  GGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHL  GVVIGILVAVILLLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWSTQ  RKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEE  NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAE  VKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQM  DTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQE  GPSPAVPSIYATLAIH</p>
128	LILRB2	Q8N42 3	<p>MTPIVTVLICLGLSLGPRTHVQTGTIPKPTLWAEPDS  VITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRI  RPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSE  LSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQ  CESQVAFGGFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRA  IFS VGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLL  ELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLQCVSDV  GYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQAGLSQANFTL  GPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPLDILITG  QIRGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFL  LTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFFMSPV TSAH  AGTYRCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVVSGPSMGSS  PPPTGP ISTPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVI  GILVAVVLLLLLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWSTQRKA  DFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEEENLY  AAVKDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQLHS  LTLRRKATEPPPSQEREPPAEPSIYATLAIH</p>
129	LILRB2	NP_00 5865.3	<p>MTPIVTVLICLGLSLGPRTRVQTGTIPKPTLWAEPDS  VITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRI  RPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSE  LSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQ  CESQVAFGGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSR  AIFS VGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDL  LELLVPGVSKKPSLSVQPGPVMAPGESLTLQCVSD</p>

			<p>           VGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQAGLSQANFT            LGPVRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPLDILIT            GQIRGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTF            LLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPV TSA            HAGTYRCYGLNSDPYLLSHPSELELVVSGPSMG            SSPPTGPSTPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLRHLGV            VIGILVAVVLLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWTSTQR            KADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEEN            LYAAVKDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDV TYAQL            HSLTLRRKATEPPPSQEREPPAEPSIYATLAIH         </p>
130	LILRB3	O7502 2	<p>           MTPALTALLCLGLSLGPRTRVQAGPFKPTLW AEP            GSVISWGSPVTIWCQGSQEAQEYRLHKEGSPEPLD            RNNPLEPKNKARFSIPSMTEHHAGRYRCHYYSSAG            WSEPSDPLEMVMTGAYSKPTLSALPSPVVASGGN            MTLRCGSQKGYHHFVLMKEGEHQLPRTLDSQQLH            SRGFQALFPVGPVTPSHRWRFTCYYYTNTPWVW            SHPSDPLEILPSGVSRKPSLLTLQGPVLAPGQSLTLQ            CGSDVGYNRFVLYKEGERDFLQRPQQPQAGLSQ            ANFTLGPVSPSNGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPL            NILMAGQIYDTVSLSAQPGPTVASGENVTLLCQSW            WQFDTFLLTKEGAAHPLRLRSMYGAHKYQAEFP            MSPV TSAHAGTYRCYGSYSSNPHLLSHPSELELV            VSGHSGGSSLPTGPPSTPGLGRYLEVLIGVSVAFV            LLLFLLFLLRRQRHSHKRTSDQRKTD FQRPAGA            AETEPKDRGLLRSSPAADVQEENLYAAVKDTQSE            DRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPVKHSSPRREMASP            PSSLSGEFLDTKDRQVEEDRQMDTEAAASEASQDV            TYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEGEPPAEPSIYATLAI            H         </p>
131	LILRB4	Q8NHJ 6	<p>           MIPTFTALLCLGLSLGPRTHMQAGPLPKPTLW AEP            GSVISWGN SVTIWCQGTLEAREYRLDKEESPAPWD            RQNP LEPKNKARFSIPSMTE DYAGRYRCY YRSPVG            WSQPSDPLELVMTGAYSKPTLSALPSPLVTSGKSVT            LLCQSRSPMDTFLLIKERAAHPLLHLRSEHGAAQQH            QAEFPMSPVTSVHGGTYRCFSSHGF SHYLLSHPSDP         </p>

			LELIVSGSLEDPRPSPTRSVSTAAGPEDQPLMPTGSV PHSGLRRHWEVLIGVLVVSILLLSLLLFLLLQHWQR GKHRTLAQRQADFQRPPGAAEPEPKDGGLQRRSSP AADVQGENFCAA VKNTQPEDGVEMDTRQSPHDED PQAVTYAKVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDR QAEEDRQMDTEAAASEAPQDVITYAQLHSFTLRQK ATEPPPSQEGASPAEPSVYATLAIH
132	LILRB5	O7502 3	MTLTLVLIICLGLSVGPRTCQAGTLPKPTLWAEF ASVIARGKPVTLWCQGPLETEEYRLDKEGLPWARK RQNPLEPGAKAKFHIPSTVYDSAGRYRCYYETPAG WSEPSDPLELVATGFYAEPTLLALPSPVVASGGNV TLQCDTLDGLLTFVLVEEEQKLPRTLYSQKLPKGPS QALFPVGPVTPSCRWRFRYYYYRKNPQVWSNPS DLLEILVPGVSRKPSLLIPQGSVVARGGSLTLQCRS DVGYDIFVLYKEGEHDLVQGSQQPQAGLSQANF TLGPVSRSHGGQYRCYGAHNLSRWSAPSDPLDILI AGLIPDIPALSVQPGPKVASGENVTLLCQSWHQIDT FFLTKEGAAHPPLCLKSKYQSYRHQAEFSMSPVTS AQGGTYRCYSAIRSYPYLLSSPSYPQELVVSGPSGD PSLSPTGSTPTPGPEDQPLTPTGLDPQSGLGRHLGV VTGVSVAFVLLLFLLLFLLLRHRHQSKHR TSAHFY RPAGAAGPEPKDQGLQKRASPVADIQEEILNAAVK DTQPKDGVEMDARAAASEAPQDVITYAQLHSLTLR REATEPPPSQEREPPAEPSIYAPLAIH
133	LILRB2 Macaca fascicularis (предполаг аемый)	XP_01 529720 3	MTPILMVLIICLGLSLGPRTHVQAGILPKPTLWAEFG SVISEGSPVTLRCQGSQVQEYHLYREKNPASWVR QIRQELVKKGYFAIGFITWEHTGQYRCQYYSHSW WSEPSDPLELVVTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNV TLQCDSQVAFDSFTLCKEGEDHPQRLNCQSHARG WSWAVFSVGPVSPSRRWSYRCYGYISSAPNVWSLP SDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQC GSDAGYDRFALYKEGEGDFLQRPVRQPQAGLSQA NFLGVPVSRSHGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDI LIAGQIRGRPFLSVQPGPKVVSGENVTLLCQSSWQF HAFLLTQAGAADAHLHLRSMYKYPKYQAEFPMSP

			V TSAHAGTYRCYGSRSSNPYLLSVPSDPLELVVSGP SGGPSSPTTGPTSTCAGPEDQPLTPTGSAPQSGLGR HLGVVTGVLVAFVLLLFLLLLFLVLRYYRRQGKRW TSAQRKADFQHPAGAVEPEPRDRGLQRRSSPAADT QEENLYAAVKDTQPEDGVELDSRAAASEDPQDVT YAQLQSLTLRREATEPPPSQERAPPVESSYATLTIH
134	LILRBb Macaca mulatta (предполаг аемый)	Q1I0P6 _MAC MU	GLSLGSRTRVQAGTLPKPTLWAEPDSVITQGSPVTL RCQGSLQVQEYRLYRERKPASWVRRIRQELVKKG YFAIGFITWEHTGQYHCQYYSHSWPEPSDPLELV MTGAYSKPTLSALPSPMVASGGNVTLCQDSQVAF DGFILCKEGEDEHPQRLNSHFHAYGWSRAVFSVGP VSPSRWSYRCYGYDSRSPYVWVSLPSDLLELLVPG VSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLCGSDAGYNRFA LYKEGEGNFLQHPGRQRQAGLSQANFLLGPVSRSH GGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQIRGRPS LLVQPGRTVASGENVTLLCQSSWQFHVFLLTQAGA ADAHLHLRSMYKYPKYQAEFPMSPV TSAHAGTYR CYGSHSSDSYLLSVPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTG TSTCGPEDQPLTPTGSAPQSGLGRHLGVVTGVLVA FVLLLFLLLLFLVLRHRRQGKRW TSAQRKADFQH PAGAVEPEPRDRGLQRRSSPAANTQEENLYAAMK DTQPEDGVELDSQAAASEDPQDVTYAQLQSLTLRR ETTEPPPSQERAPPVESSY

#### Другие варианты осуществления

Описание может быть осуществлено в других конкретных формах без отклонения от сущности или его существенных характеристик. Таким образом, вышеприведенные варианты осуществления следует рассматривать во всех отношениях как иллюстративные, а не как ограничивающие описание. Следовательно, объем изобретения указан в прилагаемой формуле изобретения, а не в предшествующем описании, и все изменения, которые подпадают под значение и диапазон эквивалентности формулы изобретения, должны быть включены в ее объем. Все ссылки, приведенные в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки.

В случае несоответствия между последовательностью в перечне последовательностей и последовательностью в описании, следует учитывать только последовательность, приведенную в данном описании.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, которое специфически связывается с человеческим LILRB2, причем антитело содержит следующие определяющие комплементарность области (CDR):

(a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность JY(J)<sub>2</sub>G(J)<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 171);

(b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>2</sub>W(J)<sub>11</sub>KJ (SEQ ID NO: 172);

(c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>2</sub>I(J)<sub>3</sub>TDYV(J)<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 173);

(d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>8</sub>DLJ (SEQ ID NO: 174);

(e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 175); и

(f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность (J)<sub>3</sub>YJYPLJ (SEQ ID NO: 176),

где каждый J независимо представляет собой природную аминокислоту.

2. Антитело по п. 1, где CDR-H2 содержит аминокислотную последовательность SJW(J)<sub>11</sub>KJ (SEQ ID NO: 177) и/или CDR-L3 содержит аминокислотную последовательность (J)<sub>3</sub>YDYPLJ (SEQ ID NO: 178).

3. Антитело по п. 1 или п. 2, где CDR-H1 содержит аминокислотную последовательность:

(i) TYAMGVS (SEQ ID NO: 15);

(ii) JYAMGVS (SEQ ID NO: 179);

(iii) TYJMGVS (SEQ ID NO: 180);

(iv) TYAJGVS (SEQ ID NO: 181);

(v) TYAMGJS (SEQ ID NO: 182);

(vi) TYAMGVJ (SEQ ID NO: 183); или

(vii) вариант по любому из пп. (ii) - (vi), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 171.

4. Антитело по любому из пп. 1-3, где CDR-H2 содержит аминокислотную последовательность:

(i) SIWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 16);

(ii) SJWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 184);

(iii) SIWJNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 185);

(iv) SIWWJGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 186);

(v) SIWWNJNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 187);

(vi) SIWWNGJKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 188);

(vii) SIWWNGNJYNNPSLKS (SEQ ID NO: 189);

(viii) SIWWNGNKJNNPSLKS (SEQ ID NO: 190);

- (ix) SIWWNGNKYJNPSLKS (SEQ ID NO: 191);
- (x) SIWWNGNKYNJPSLKS (SEQ ID NO: 192);
- (xi) SIWWNGNKYNNJSLKS (SEQ ID NO: 193);
- (xii) SIWWNGNKYNNPJLKS (SEQ ID NO: 194);
- (xiii) SIWWNGNKYNNPSJKS (SEQ ID NO: 195);
- (xiv) SIWWNGNKYNNPSLKJ (SEQ ID NO: 196); или

(xv) вариант по любому из пп. (ii) - (xiv), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 172.

5. Антитело по любому из пп. 1-4, где CDR-H3 содержит аминокислотную последовательность:

- (i) SRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 17);
- (ii) JRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 197);
- (iii) SJIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 198);
- (iv) SRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 199);
- (v) SRIIFFTDYVMDA (SEQ ID NO: 200);
- (vi) SRIIRJTDYVMDA (SEQ ID NO: 201);
- (vii) SRIIRFTDYVJDA (SEQ ID NO: 202);
- (viii) SRIIRFTDYVMJA (SEQ ID NO: 203);
- (ix) SRIIRFTDYVMDJ (SEQ ID NO: 204); или

(x) вариант по любому из пп. (ii) - (ix), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 173.

6. Антитело по любому из пп. 1-5, где CDR-L1 содержит аминокислотную последовательность:

- (i) RASEDIYNDLA (SEQ ID NO: 18);
- (ii) JASEDIYNDLA (SEQ ID NO: 205);
- (iii) RJSEDIYNDLA (SEQ ID NO: 206);
- (iv) RAJEDIYNDLA (SEQ ID NO: 207);
- (v) RASJDIYNDLA (SEQ ID NO: 208);
- (vi) RASEJIYNDLA (SEQ ID NO: 209);
- (vii) RASEDJYNDLA (SEQ ID NO: 210);
- (viii) RASEDIJNDLA (SEQ ID NO: 211);
- (ix) RASEDIYJDLA (SEQ ID NO: 212);
- (x) RASEDIYNDLJ (SEQ ID NO: 213); или

(xi) вариант по любому из пп. (ii) - (x), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 174.

7. Антитело по любому из пп. 1-6, где CDR-L2 содержит аминокислотную последовательность:

- (i) NANSLHT (SEQ ID NO: 19);
- (ii) JANSLHT (SEQ ID NO: 214);

(iii) NJNSLHT (SEQ ID NO: 215);

(iv) NAJSLHT (SEQ ID NO: 216);

(v) NANJLHT (SEQ ID NO: 217);

(vi) NANSJHT (SEQ ID NO: 218);

(vii) NANSLJT (SEQ ID NO: 219);

(viii) NANSLHJ (SEQ ID NO: 220); или

(ix) вариант по любому из пп. (ii) - (viii), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 175.

8. Антитело по любому из пп. 1-7, где CDR-L3 содержит аминокислотную последовательность:

(i) QQYYDYPLT (SEQ ID NO: 20);

(ii) JQYYDYPLT (SEQ ID NO: 221);

(iii) QJYYDYPLT (SEQ ID NO: 222);

(iv) QQJYDYPLT (SEQ ID NO: 223);

(v) QQYYDYPLJ (SEQ ID NO: 224); или

(vi) вариант по любому из пп. (ii) - (v), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 176.

9. Антитело по п. 1, где CDR-H2 содержит аминокислотную последовательность LIWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 225) или ее вариант, содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 172, и/или CDR-L3 содержит аминокислотную последовательность QQYYJYPLT (SEQ ID NO: 226) или ее вариант, содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 176.

10. Антитело по любому из пп. 3-9, где одна или более CDR содержат указанную дополнительную аминокислоту J.

11. Антитело по любому из пп. 1-10, где CDR-H3 содержит аминокислотную последовательность (J)<sub>2</sub>IJXJTDYV(J)<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 227), где X не представляет собой аргинин.

12. Антитело по п. 11, где X выбран из группы, состоящей из аспартата, глутамата и аланина.

13. Антитело по п. 11 или п. 12, где CDR-H3 содержит последовательность:

(i) JRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 228);

(ii) SJIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 229);

(iii) SRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 230);

(iv) SRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 231);

(v) SRIIXJTDYVMDA (SEQ ID NO: 232);

(vi) SRIIXFTDYVJDA (SEQ ID NO: 233);

(vii) SRIIXFTDYVMJA (SEQ ID NO: 234);

(viii) SRIIXFTDYVMDJ (SEQ ID NO: 235); или



(ix) вариант по любому из пп. (ii) - (iii) или (v) - (viii), содержащий дополнительную аминокислоту J вместо указанной аминокислоты, которая представлена J в SEQ ID NO: 173.

14. Антитело по любому из пп. 1-13, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи ( $V_H$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 или 113, и/или вариабельную область легкой цепи ( $V_L$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 или 114.

15. Антитело по любому из пп. 1-8, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи ( $V_H$ ), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 или 113, и/или вариабельную область легкой цепи ( $V_L$ ), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 или 114.

16. Антитело по любому из пп. 1-15, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101 или 111, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102 или 112.

17. Антитело, которое специфически связывается с человеческим LILRB2, где антитело содержит следующие шесть определяющих комплементарность областей (CDR):

- (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;
- (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16;
- (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17;
- (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18;
- (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и
- (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

18. Антитело по п. 17, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи ( $V_H$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, и вариабельную область легкой цепи ( $V_L$ ), содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, при этом область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15-17, а область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20.

19. Антитело по п. 17 или п. 18, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.



содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72.

30. Антитело по п. 17, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 83, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 84, при этом область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15-17, а область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20.

31. Антитело по п. 17 или п. 30, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84.

32. Антитело по любому из пп. 17, 30 и 31, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82.

33. Антитело по п. 17, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 93, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 94, при этом область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 95-97, а область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 98-100.

34. Антитело по п. 17 или п. 33, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94.

35. Антитело по любому из пп. 17, 33 и 34, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92.

36. Антитело по п. 17, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 103, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 104, при этом область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 105-107, а область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 108-110.

37. Антитело по п. 17 или п. 36, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104.

38. Антитело по любому из пп. 17, 36 и 37, где антитело содержит тяжелую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102.

39. Антитело по п. 17, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 113, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 114, при этом область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 115-117, а область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 118-120.

40. Антитело по п. 17 или п. 39, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 113, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114.

41. Антитело по любому из пп. 17, 39 и 40, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

42. Антитело, которое специфически связывается с человеческим LILRB2, где антитело содержит следующие шесть CDR:

- (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;
- (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6;
- (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7;
- (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8;
- (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; и
- (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

43. Антитело по п. 42, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, при этом область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5-7, а область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-10.

44. Антитело по п. 42 или п. 43, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

45. Антитело по любому из пп. 42-44, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

46. Антитело, которое специфически связывается с человеческим LILRB2, где антитело содержит следующие шесть CDR:

- (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25;

- (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26;
- (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27;
- (d) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28;
- (e) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и
- (f) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

47. Антитело по п. 46, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 23, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 24, при этом область  $V_H$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25-27, а область  $V_L$  содержит три CDR, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28-30.

48. Антитело по п. 46 или п. 47, где антитело содержит область  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, и область  $V_L$ , содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24.

49. Антитело по любому из пп. 46-48, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

50. Антитело по любому из пп. 1-49, где тяжелая цепь дополнительно содержит С-концевой лизин.

51. Антитело, которое перекрестно конкурирует за связывание с человеческим LILRB2 с антителом по любому из пп. 1-50.

52. Антитело, которое специфически связывается с человеческим LILRB2 и блокирует связывание HLA-G и/или HLA-A2 с человеческим LILRB2.

53. Антитело по п. 52, где блокирование определяют в анализе блокирования тетрамера HLA-G с применением человеческих макрофагов моноцитарного происхождения, человеческих миелоидных клеток и/или линии клеток, экспрессирующей LILRB2.

54. Антитело по п. 53, где анализ включает применение гранул, конъюгированных с HLA-G.

55. Антитело по п. 53 или п. 54, где антитело блокирует тетрамер HLA-G с  $EC_{50}$  менее 20 нМ, менее 2 нМ или менее 0,2 нМ.

56. Антитело по любому из пп. 52-55, где блокирование определяют с помощью анализа блокирования тетрамера HLA-A2 с применением человеческих макрофагов моноцитарного происхождения.

57. Антитело по п. 56, где антитело блокирует тетрамер HLA-A2 с  $EC_{50}$  менее 20 нМ, менее 2 нМ или менее 0,2 нМ.

58. Антитело по любому из пп. 52-57, которое представляет собой антитело по любому из пп. 1-51.

59. Антитело, которое специфически связывается с человеческим LILRB2, причем

указанное антитело способно превращать M2-подобный макрофаг в M1-подобный макрофаг.

60. Антитело по п. 59, где превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается повышенной экспрессией одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из CXCL9, CXCL11, IRF1, TAP1, ИЛ-6R и ИЛ-15.

61. Антитело по п. 59 или п. 60, где превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается посредством пониженной экспрессией одного или более генов, выбранных из группы, состоящей из ИЛ-10, CCL2, TGFBR2, CXCL13, ИЛ-21R, CD36, CR1, C1QB и TGFBI.

62. Антитело по любому из пп. 59-61, где превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг определяют с применением анализа гистокультуры опухоли.

63. Антитело по любому из п. 59-62, где превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг определяют с применением анализа первичных человеческих макрофагов с использованием человеческих макрофагов моноцитарного происхождения.

64. Антитело по п. 63, где превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается повышенной экспрессией одного, двух или всех трех цитокинов, выбранных из группы, состоящей из ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, и/или превращение M2-подобного макрофага в M1-подобный макрофаг отмечается сниженной экспрессией одного или обоих цитокинов, выбранных из группы, состоящей из ИЛ-10 и CCL-2.

65. Антитело по любому из пп. 58-64, которое представляет собой антитело по любому из пп. 1-51.

66. Антитело по любому из пп. 58-64, которое представляет собой антитело по любому из пп. 52-57.

67. Антитело по любому из пп. 1-66, где антитело связывается с LILRB2 с константой диссоциации ( $K_D$ ) менее 3,0 нМ.

68. Антитело по п. 67, где антитело связывается с LILRB2 с  $K_D$  менее 1,5 нМ.

69. Антитело по п. 68, где антитело связывается с LILRB2 с  $K_D$  менее 1,0 нМ.

70. Антитело по п. 69, где антитело связывается с LILRB2 с константой диссоциации ( $K_D$ ) менее 750 пМ.

71. Антитело по любому из пп. 1-66, где антитело представляет собой моноклональное антитело.

72. Антитело по любому из пп. 1-71, где антитело представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, CDR-привитое антитело или человеческое антитело.

73. Антитело по любому из п. 1-72, где антитело содержит Fc-область, выбранную из группы, состоящей из нативной Fc-области, вариантной Fc-области и функциональной Fc-области.

74. Антитело по любому из пп. 1-73, где антитело представляет собой конъюгатное антитело или является детектируемо меченым.

75. Антитело по любому из пп. 1-74, где антитело представляет собой антитело

IgG1, антитело IgG2, антитело IgG3 или антитело IgG4.

76. Антитело по п. 75, которое является антителом IgG4.

77. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид антитела по любому из пп. 1-76.

78. Клетка-хозяин или вектор, содержащие молекулу нуклеиновой кислоты по п. 77.

79. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1-76 или молекулу нуклеиновой кислоты по п. 77.

80. Способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1-76.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что заболевание представляет собой злокачественное новообразование.

82. Способ усиления противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1-76.

83. Способ по любому из пп. 80-82, дополнительно включающий введение антитела в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

84. Способ по п. 83, отличающийся тем, что второй терапевтический агент представляет собой иммунотерапию или противораковую вакцину.

85. Способ по п. 84, отличающийся тем, что второй терапевтический агент представляет собой иммунотерапию, включающую препарат против PD-1 и/или препарат против ICOS.

86. Набор, содержащий фармацевтическую композицию по п. 79 и инструкцию по применению.

87. Олигонуклеотид, содержащий фрагмент нуклеиновой кислоты, причем фрагмент нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере 16 последовательных остатков нуклеиновой кислоты в последовательности олигонуклеотида CGTCACCSTCAGTTGTCAG (SEQ ID NO: 143) или TCCGTGTAATCCAAGATGCTG (SEQ ID NO: 158).

88. Олигонуклеотид по п. 87, отличающийся тем, что фрагмент нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере 16 последовательных остатков нуклеиновой кислоты в последовательности олигонуклеотида AGTCCCGTCACCSTCAGTTGTCAGGGGAG (SEQ ID NO: 169) или TCGTATCCGTGTAATCCAAGATGCTGATTTT (SEQ ID NO: 170).

89. Набор праймеров для кПЦР, содержащий прямой праймер и обратный праймер, причем прямой праймер содержит фрагмент нуклеиновой кислоты, содержащий по меньшей мере 16 последовательных остатков нуклеиновой кислоты в олигонуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 143 или 169, а обратный праймер содержит фрагмент нуклеиновой кислоты, содержащий по меньшей мере 16 последовательных остатков нуклеиновой кислоты олигонуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 158 или 170,

при этом набор праймеров для кПЦР необязательно содержится в наборе, который дополнительно содержит зонд, содержащий по меньшей мере 16 последовательных остатков SEQ ID NO: 167.

90. Способ количественного определения уровня экспрессии LILRB2 в биологическом образце, включающий:

- (а) получение кДНК, полученной из биологического образца;
- (b) выполнение кПЦР на кДНК с использованием олигонуклеотида по п. 87 или п. 88, или набора праймеров кПЦР, или набора по п. 89 для получения продукта амплификации, при этом кПЦР специфична для LILRB2; и
- (с) количественный анализ продукта амплификации для определения уровня экспрессии LILRB2.

91. Применение антитела по любому из пп. 1-76 для лечения или профилактики заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения терапевтически эффективного количества антитела субъекту.

92. Применение по п. 91, где заболевание представляет собой злокачественное новообразование.

93. Применение терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1-76 для усиления противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества антитела субъекту.

94. Применение по любому из пп. 91-93, дополнительно включающее введение антитела в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

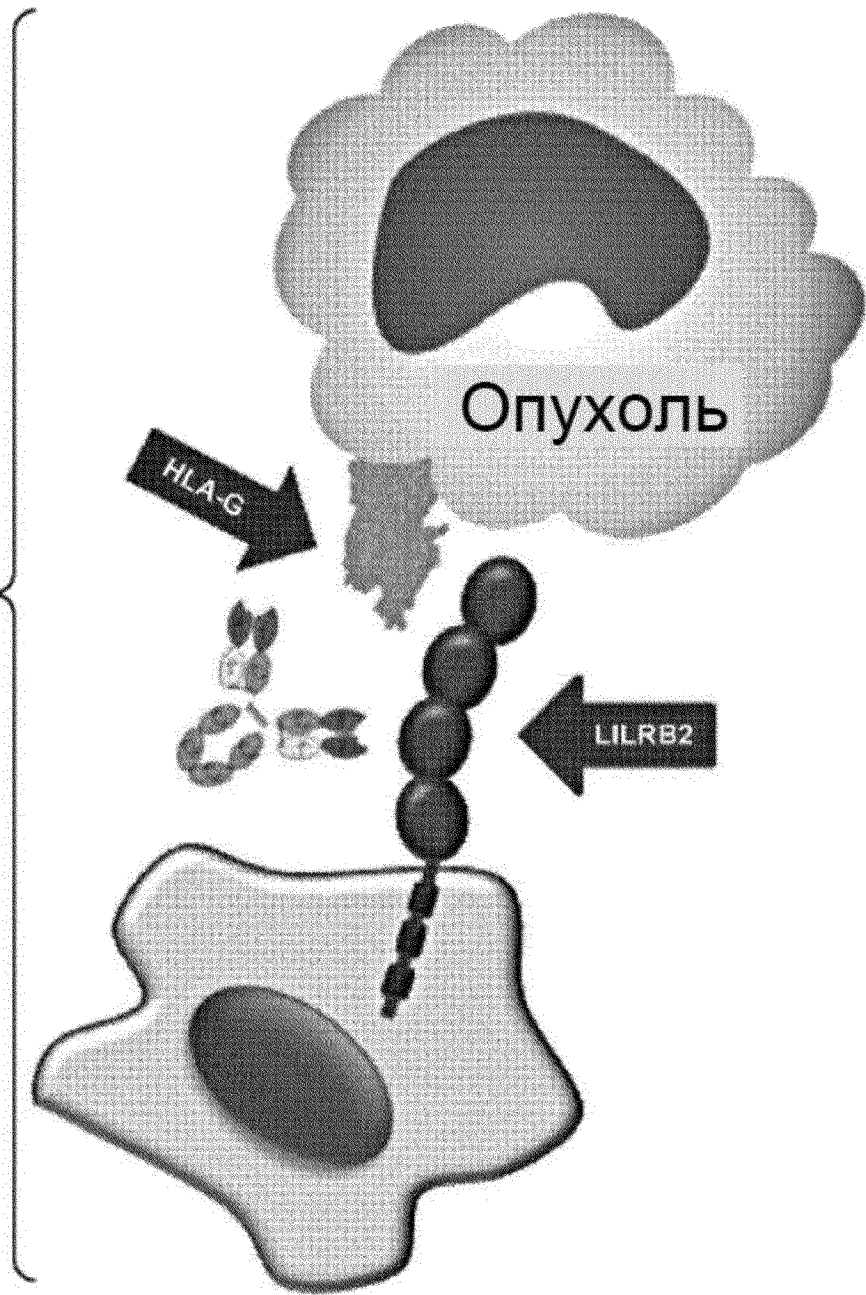
95. Применение по п. 94, где второй терапевтический агент представляет собой иммунотерапию или противораковую вакцину.

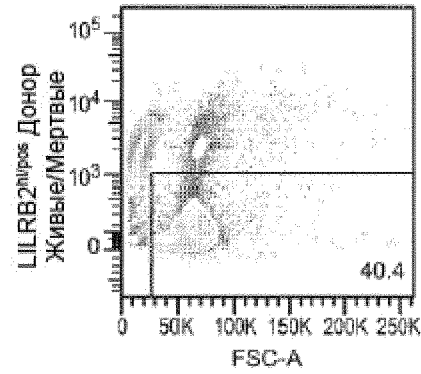
96. Применение по п. 95, где второй терапевтический агент представляет собой иммунотерапию, включающую препарат против PD-1 и/или препарат против ICOS.

По доверенности

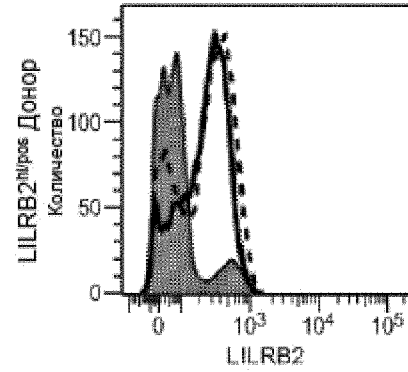


ФИГ. 1

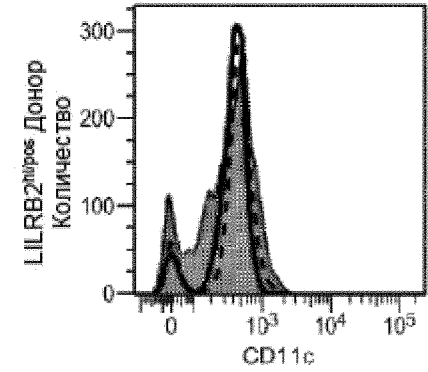




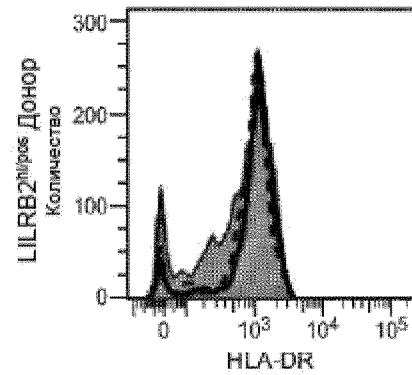
ФИГ. 2А



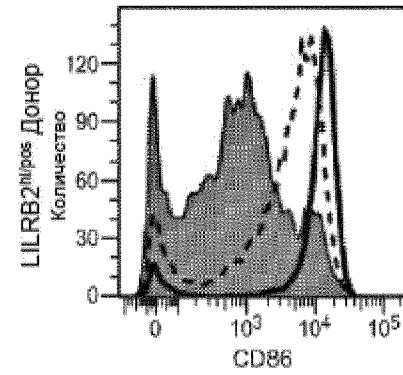
ФИГ. 2В



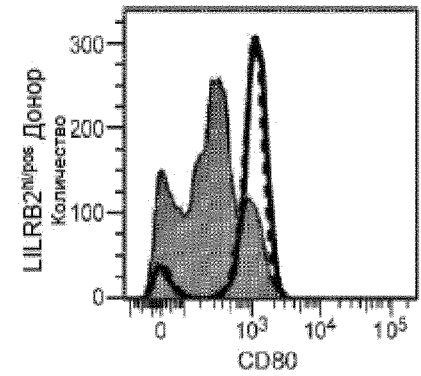
ФИГ. 2С



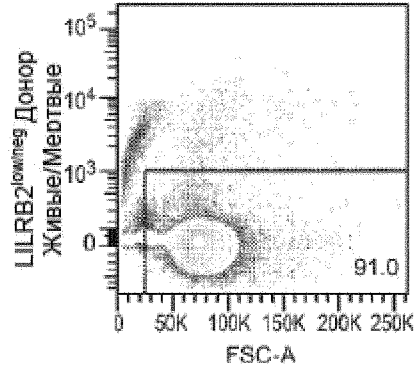
ФИГ. 2D



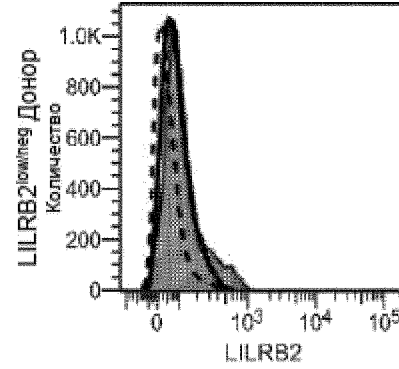
ФИГ. 2Е



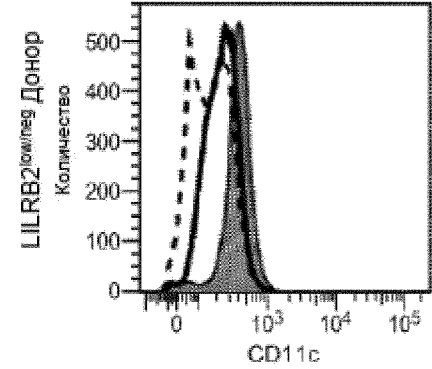
ФИГ. 2F



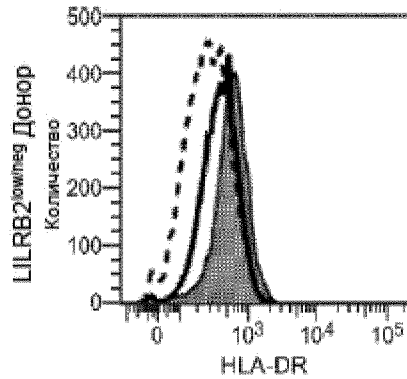
ФИГ. 2G



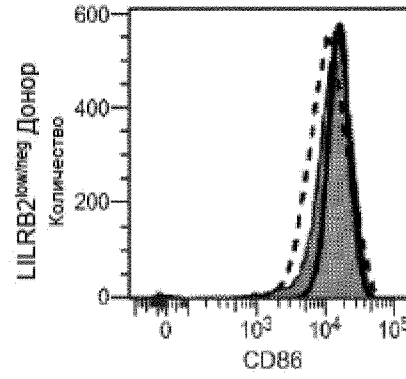
ФИГ. 2H



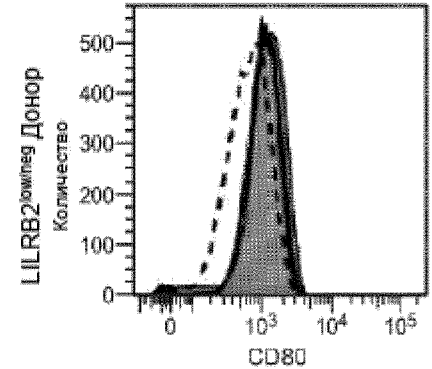
ФИГ. 2I



ФИГ. 2J



ФИГ. 2K



ФИГ. 2L

ФИГ. 3А-1	ФИГ. 3А-2
ФИГ. 3А-3	ФИГ. 3А-4

### ФИГ. 3А

### ФИГ. 3А-1

Эталон	Изотип гибридного клона	Связывание LILRB1 CHO (кратность относительно изоטיפа)	Связывание LILRB2 CHO (кратность относительно изоטיפа)	Связывание LILRB3 CHO (кратность относительно изоטיפа)	Связывание LILRB4 CHO (кратность относительно изоטיפа)	Связывание LILRB5 CHO (кратность относительно изоטיפа)	Связывание LILRA1 CHO (кратность относительно изоטיפа)
J-01	mG1	0,96	19,95	2,49	0,87	1,23	0,90
J-02	mG1	1,03	12,18	1,00	1,00	1,09	0,98
J-03	mG2b	0,94	30,14	0,97	1,02	1,00	0,89
J-04	mG2b	0,95	33,60	0,90	0,83	1,08	0,88
J-05	mG2b	6,95	25,09	6,91	0,76	1,03	0,87
J-06	mG1	0,83	9,58	0,89	0,83	1,00	1,42
J-07	mG2b	0,97	38,66	0,93	0,91	1,29	0,96
J-08	mG1	1,00	25,19	1,03	0,98	1,40	1,01
J-09	mG1	0,96	13,19	1,01	0,90	1,18	1,06
J-10	mG1	1,04	19,03	1,22	0,94	1,36	1,13
J-11	mG2b	1,07	3,49	1,09	1,03	1,22	-1,63
J-12	mG2a	0,99	1,25	0,99	0,99	0,98	1,28
J-13	mG1	0,86	14,40	0,90	0,84	1,01	0,89
J-14	mG1	0,92	25,97	0,92	1,01	1,03	0,94
J-15	mG2b	1,00	28,06	1,02	0,95	1,24	1,17
J-16	mG1	1,03	3,75	1,11	1,01	1,10	611,88
J-17	mG1	1,05	3,68	0,99	1,00	1,03	7,31

ФИГ. 3А-2

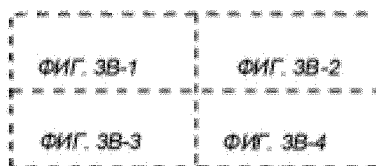
Связывание LILRA2 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA3 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA4 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA5 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA6 CHOs (кратность относительно изотипа)
1,34	1,06	1,90	0,77	1,23
1,34	1,08	1,63	1,03	1,14
1,58	1,05	2,01	0,96	1,23
1,62	0,93	2,07	0,74	1,30
1,34	0,90	1,69	0,82	1,23
1,09	1,04	1,85	0,73	1,28
1,57	1,02	1,39	0,98	1,09
1,64	1,03	0,28	1,06	1,08
1,28	1,03	1,32	0,91	0,90
1,49	1,10	1,00	0,99	0,19
-2,52	1,02	-1,27	1,34	1,00
1,24	1,23	0,20	1,12	0,41
1,08	0,99	1,93	0,76	1,19
1,42	1,01	1,46	0,99	1,17
1,86	1,17	0,43	1,19	0,92
-31,56	182,92	-35,47	3,09	0,62
-1,05	1,35	-36,53	0,82	0,94

J-18	rG1	0,98	1,23	0,81	0,96	0,97	-12,44
J-19	rG1	1,05	3,78	1,09	1,03	1,19	-3,31
J-20	rG1	1,02	3,43	1,00	0,99	1,03	375,00
J-21	mG2a	1,08	2,50	1,22	1,10	1,06	13,94
J-22	mG1	1,05	1,46	1,01	0,97	1,00	-19,25
J-23	mG2b	6,99	1,15	1,36	6,99	0,94	11,00
J-24	mG1	1,06	1,01	1,00	0,99	0,95	22,44
J-25	mG1	0,98	1,57	1,06	0,99	0,96	-6,31
Исполненная контроль		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Общее кол-во подвергнутых срезаю		25	25	25	25	25	25
Пороговое значение совпадений		2	2	2	2	2	2
Общее кол-во совпадений		0	18	1	0	0	6
% совпадения		0,0	72,0	4,0	0,0	0,0	24,0

ФИГ. 3А-3

1,91	0,45	2,67	-1,93	-0,64
-0,51	0,97	-26,80	-0,62	1,07
3,12	0,18	19,73	-3,65	-0,08
-1,26	1,46	-26,33	1,63	1,21
3,03	0,51	16,00	-1,05	-0,20
0,34	1,33	-16,13	1,33	0,70
0,04	1,36	-17,67	0,59	1,19
1,85	0,51	29,73	-1,33	0,26
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
25	25	25	25	25
2	2	2	2	2
2	1	6	1	0
8,0	4,0	24,0	4,0	0,0

ФИГ. 3А-4



ФИГ. 3В

ФИГ. 3В-1

Эталон	Изолированный гибридный клон	Блокирование HLA-G:IL12RB2 CHOz (% блокированных)	HLA-A2-LILRB2 Блокирование CHOz (% блокированных)	Продукция ФНО-α (кратность относительно только ЛПС)	Продукция ИЛ-6 (кратность относительно только ЛПС)	Продукция ИЛ-10 (кратность относительно только ЛПС)	Продукция ССЛ2 (кратность относительно только ЛПС)
J-01	mG1	-40,25	15,12	3,86	2,55	0,78	0,88
J-02	mG1	50,41	43,21	1,58	1,38	0,79	0,79
J-03	mG2b	-156,17	-208,49	1,27	1,10	0,97	0,95
J-04	mG2b	-255,13	-319,42	1,18	1,36	0,95	1,00
J-05	mG2b	-21,97	15,16	1,16	1,00	1,01	1,02
J-06	mG1	-62,70	-59,10	0,56	1,10	0,92	0,84
J-07	mG2b	44,29	70,93	2,66	1,58	0,91	0,95
J-08	mG1	-186,51	-177,77	3,63	2,64	0,75	0,89
J-09	mG1	-13,66	2,46	3,32	1,68	0,90	0,92
J-10	mG1	-73,72	-34,77	2,44	1,97	1,01	1,01
J-11	mG2b	99,86	94,44	7,61	3,06	0,81	0,96
J-12	mG2a	-7,16	-10,40	0,31	0,87	0,89	0,94
J-13	mG1	-61,85	-61,85	нд	нд	нд	нд
J-14	mG1	-160,30	-204,08	0,91	2,97	0,75	0,84
J-15	mG2b	-243,96	-288,39	1,07	1,29	0,92	0,93
J-16	rG1	96,77	94,80	2,49	1,41	1,09	1,31
J-17	mG1	96,56	93,44	8,12	2,57	0,89	1,85



ФИГ. 3В-2

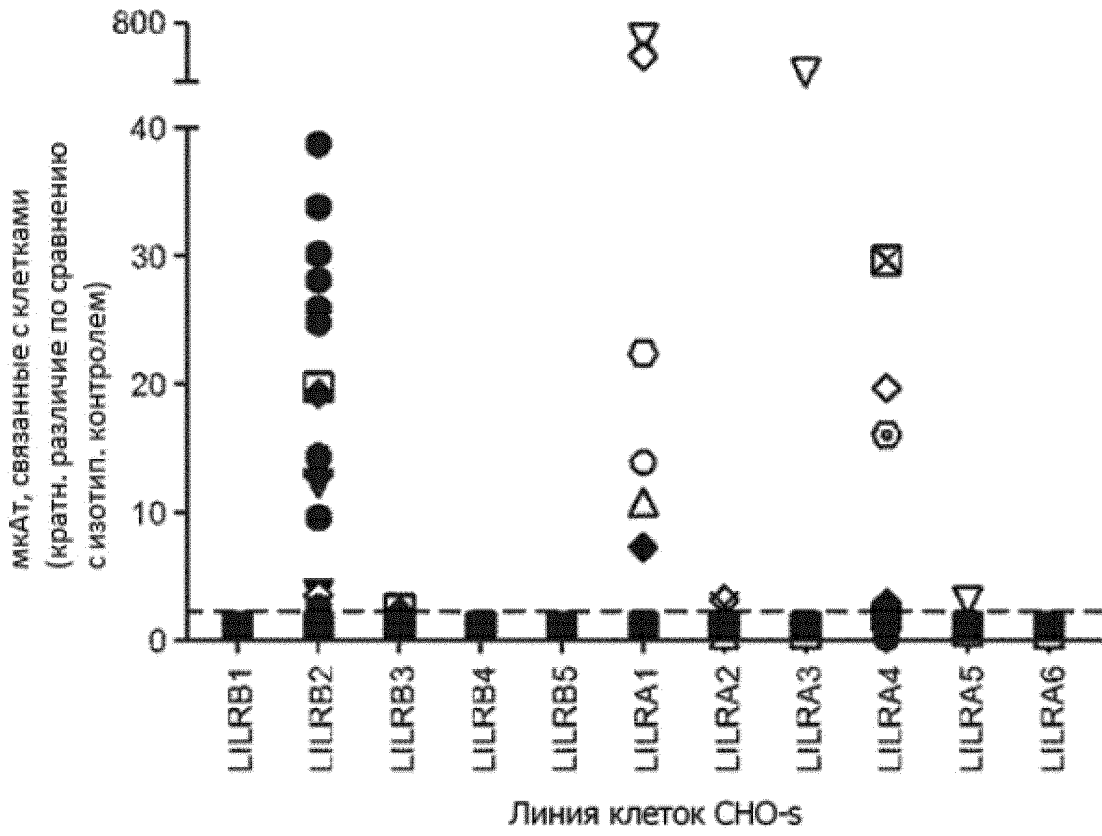
Связывание моноцитов человека (кратность относительно изотипа)	Связывание нейтрофилов человека (кратность относительно изотипа)	Связывание моноцитов яванского макака (кратность относительно изотипа)	Связывание нейтрофилов яванского макака (кратность относительно изотипа)	Связывание моноцитов макак-резуса (кратность относительно изотипа)	Связывание нейтрофилов макак-резуса (кратность относительно изотипа)
8,54	2,89	0,71	0,94	0,88	0,64
11,35	4,55	0,92	0,87	1,41	1,44

J-18	rG1	-15,14	16,04	0,92	1,08	0,99	1,00
J-19	rG1	97,01	95,32	8,90	2,72	0,80	1,69
J-20	rG1	-188,75	11,03	9,02	2,58	0,67	1,64
J-21	mG2a	95,61	56,57	5,46	2,23	1,00	1,48
J-22	mG1	-24,90	21,76	2,62	1,39	1,10	1,24
J-23	mG2b	58,97	16,27	2,07	1,14	1,03	1,12
J-24	mG1	0,08	6,30	1,16	0,84	0,83	0,87
J-25	mG1	-139,70	7,12	1,82	1,57	1,20	1,29
Исотипический контроль		-8,00	-12,49	0,82	1,08	0,96	1,02
Общее кол-во подвергнутых скринингу		25	25	24	24	24	24
Пороговое значение совпадений		50	50	1,5	1,5	0,85	0,85
Общее кол-во совпадений		7	6	15	12	8	3
% совпадения		28,0	24,0	62,5	50,0	33,3	12,5

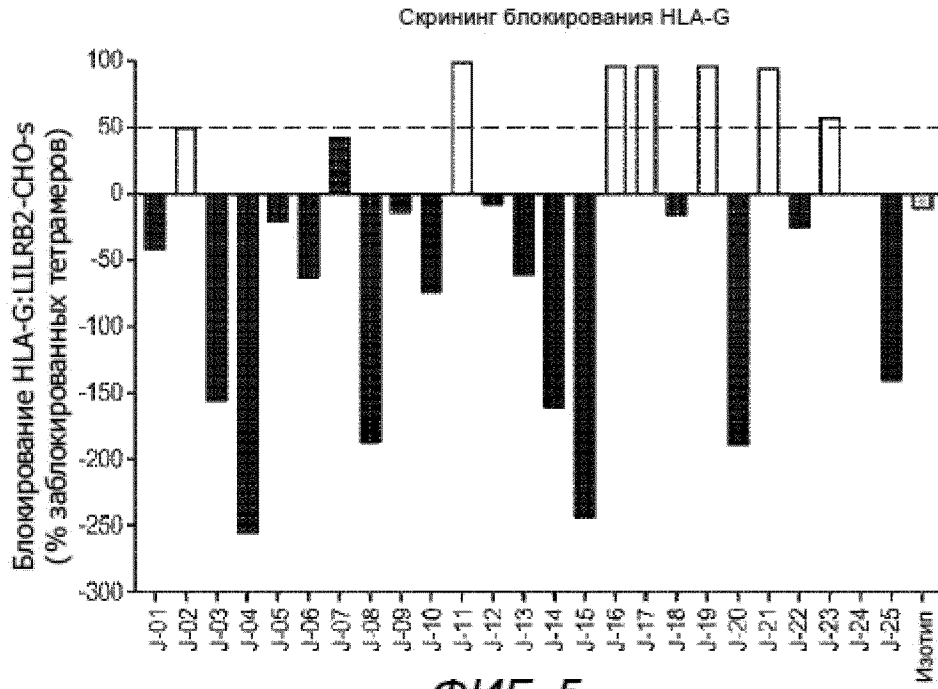
ФИГ. 3В-3

12,31	4,5	17,88	2,35	6,79	21,89
1	1	1	1	1	1
3	3	3	3	3	3
10	10	10	10	10	10
3	3	1	3	1	3
100,0		33,3		33,3	

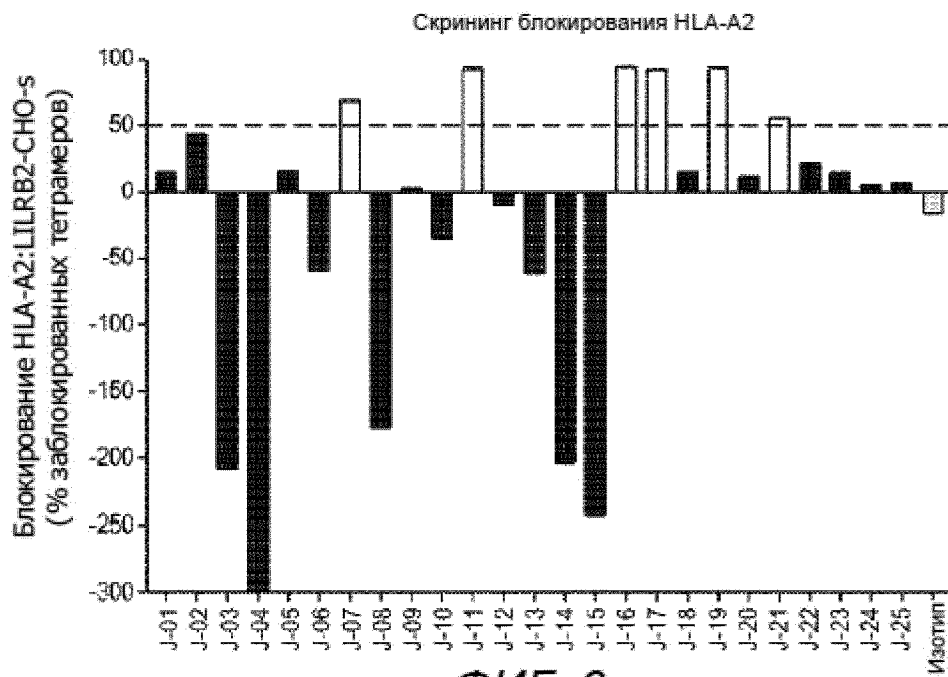
ФИГ.3В-4



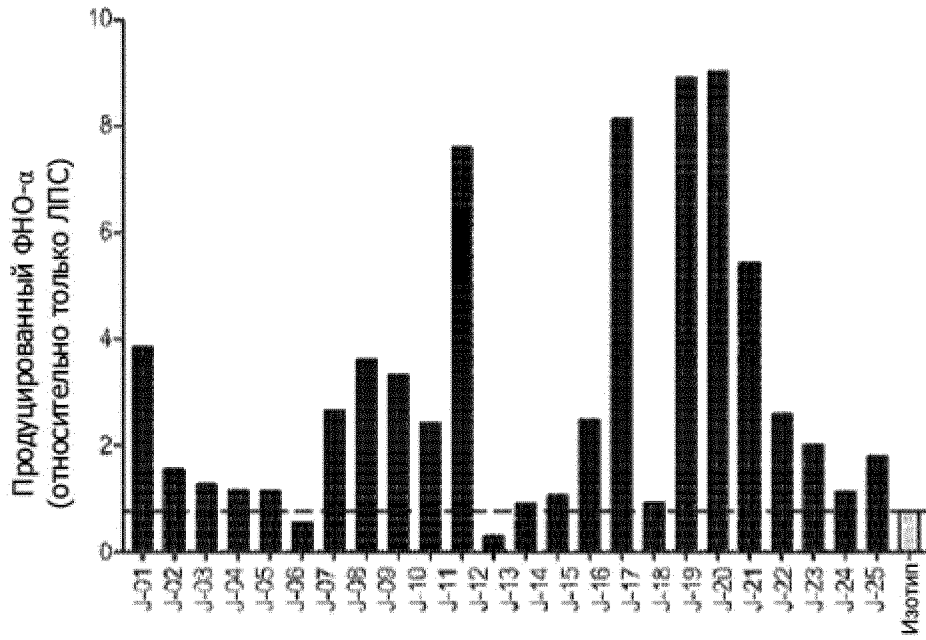
ФИГ. 4



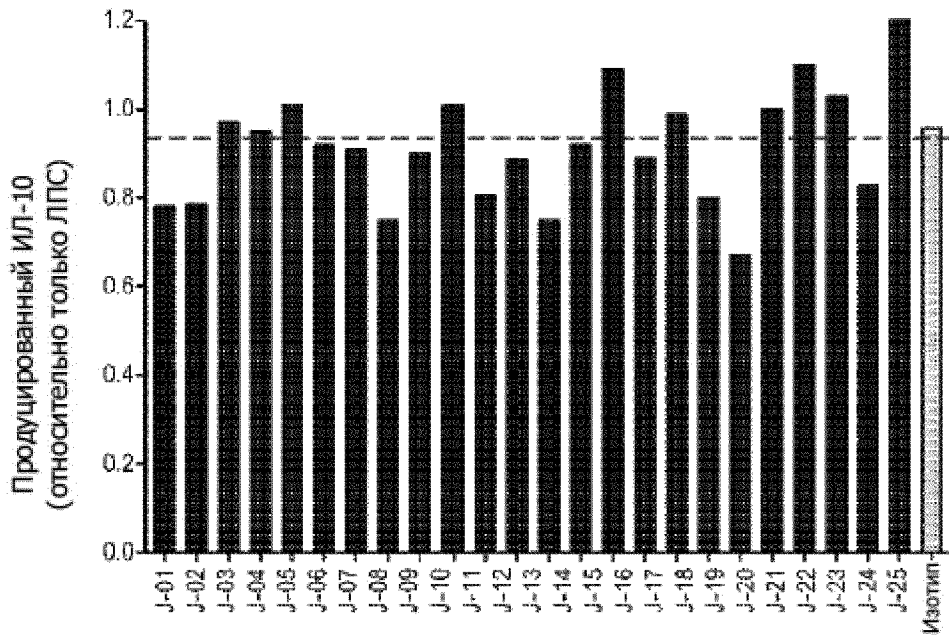
ФИГ. 5



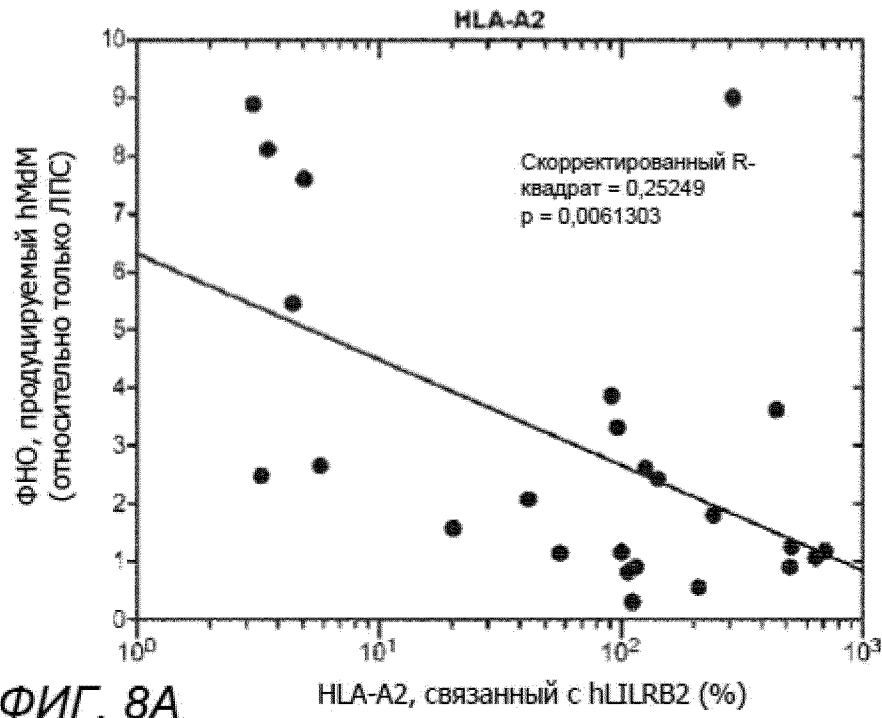
ФИГ. 6



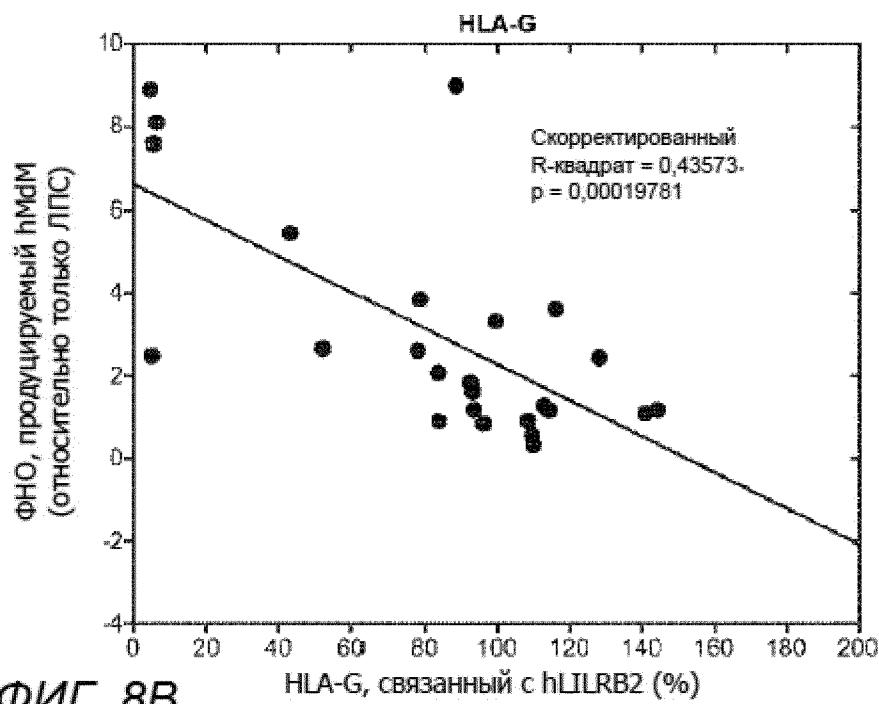
ФИГ. 7А



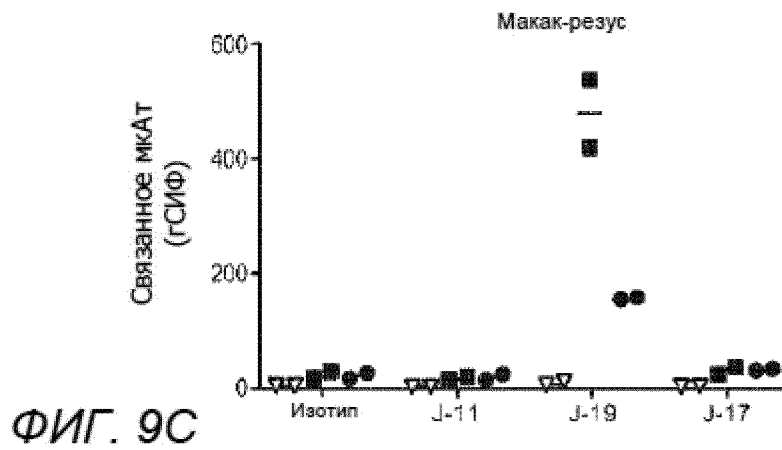
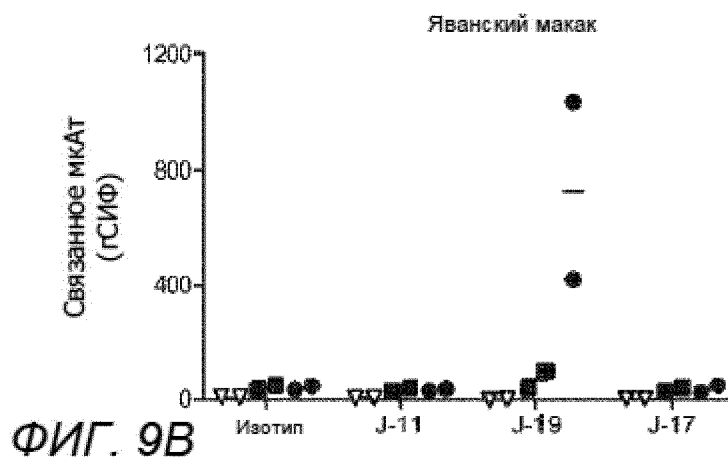
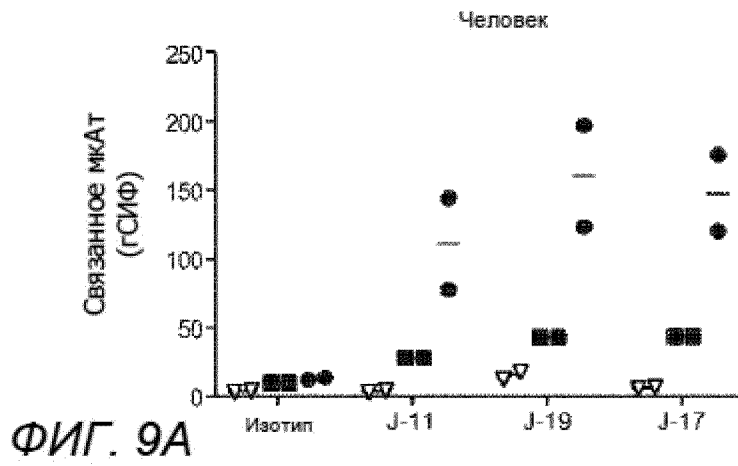
ФИГ. 7В



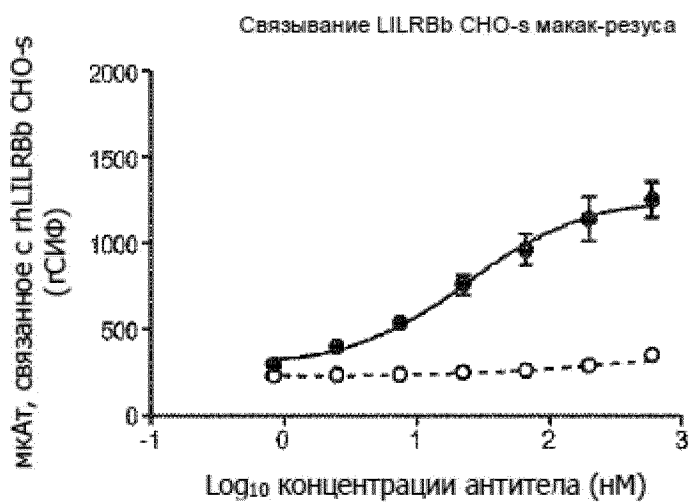
ФИГ. 8А



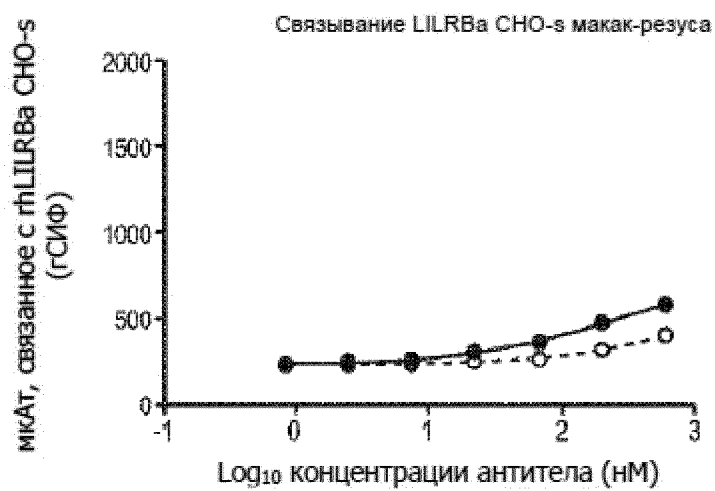
ФИГ. 8В







ФИГ. 10А



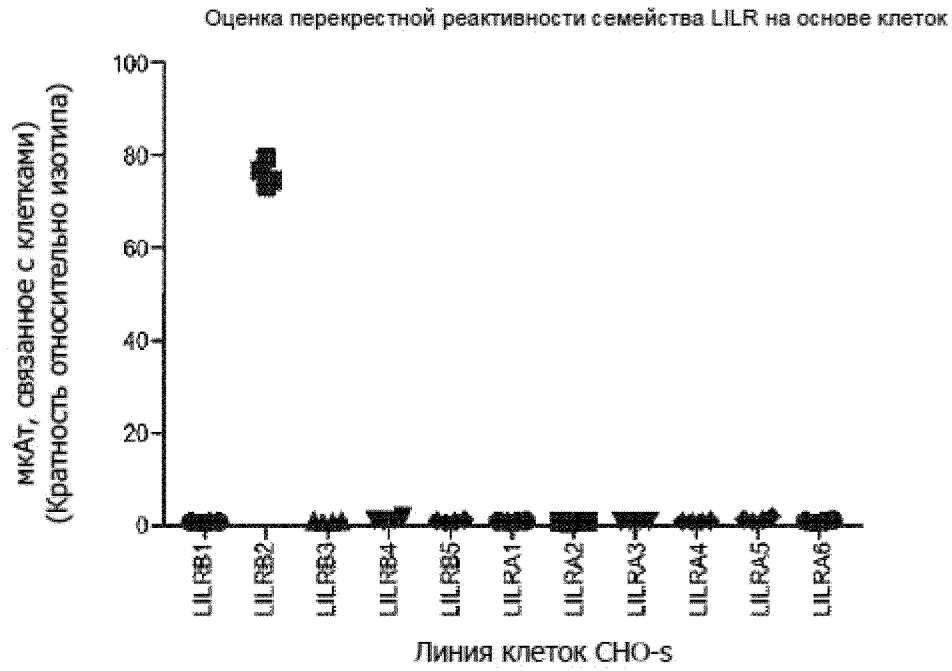
ФИГ. 10В

МАТ	Связывание LILRB1 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRB2 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRB3 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRB4 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRB5 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA1 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA2 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA3 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA4 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA5 CHOs (кратность относительно изотипа)	Связывание LILRA6 CHOs (кратность относительно изотипа)
J-19,h1	0,79	73,25	1,00	1,22	1,01	0,95	0,88	0,97	0,95	1,34	0,98
J-19,h2	0,73	74,45	0,81	0,90	0,76	0,89	0,66	0,83	0,84	0,86	0,74
J-19,h3	0,84	79,40	0,97	1,16	0,95	1,00	0,83	0,92	0,99	1,22	1,03
J-19,h4	0,87	76,50	1,24	2,02	1,27	0,99	0,96	6,99	1,09	2,14	1,27
Изотип	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

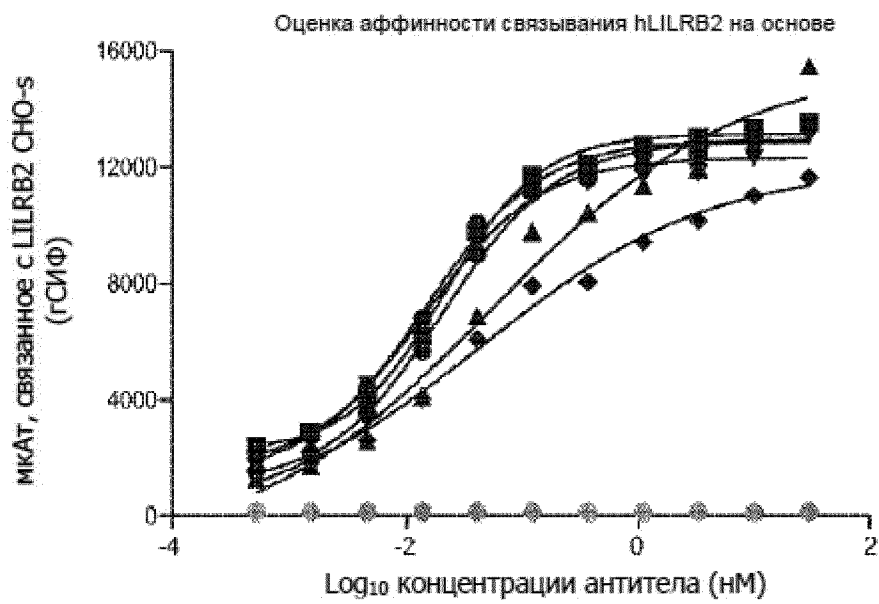
ФИГ. 11А

МАТ	EC50 (нМ), связывание hLILRB2 CHOs	EC50 (нМ), блокирование HLA-G LILRB2	EC50 (нМ), блокирование HLA-A2: LILRB2	EC50 (нМ), продукция ФНО-а	EC50 (нМ), продукция ИЛ-6	IC50 (нМ), продукция ИЛ-10	IC50 (нМ), продукция CCL2
J-19.h1	0,03204	0 162	0 083	0 076	0 085	0 450	0 005
J-19.h2	0,4467	0 122	0 087	0 120	0 186	0 702	0 011
J-19.h3	0,03248	0 113	0 103	0 087	0 083	0 270	5 902
J-19.h4	0,001749	0 131	0 106	0 084	0 091	0 190	0 010
Изотип	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д

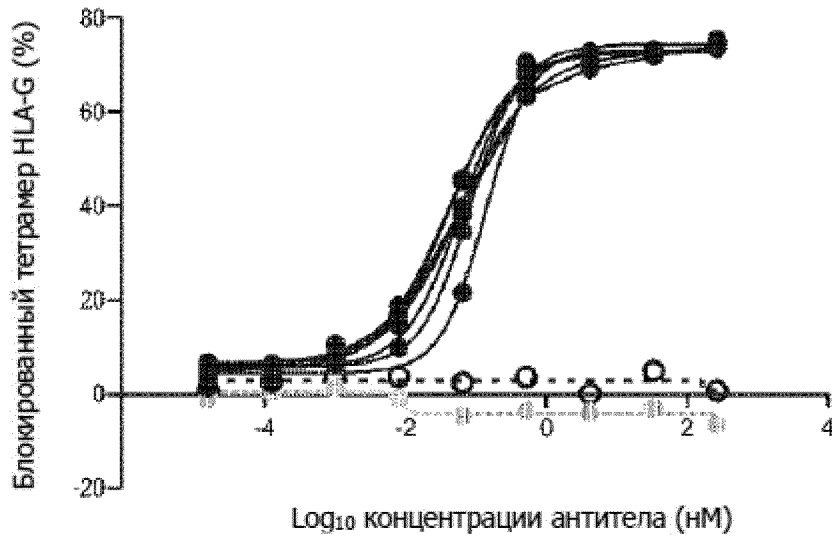
ФИГ. 11В



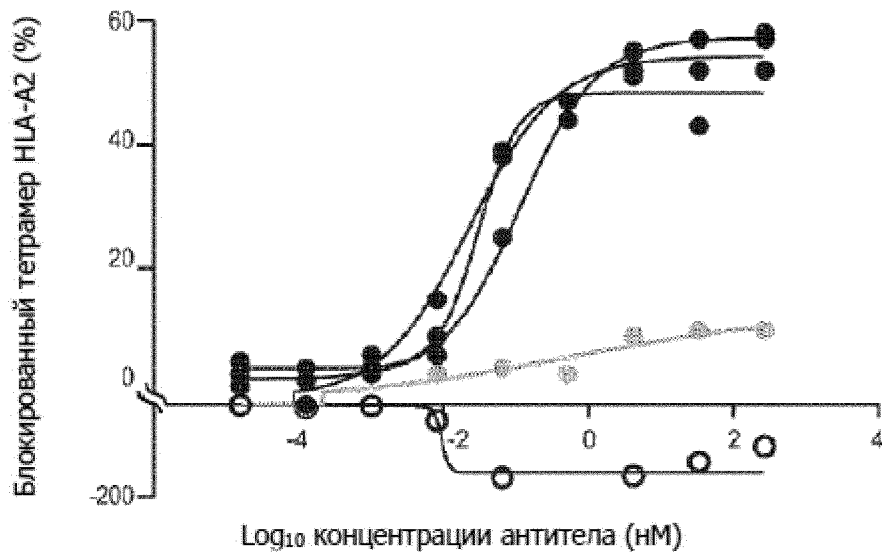
ФИГ. 12



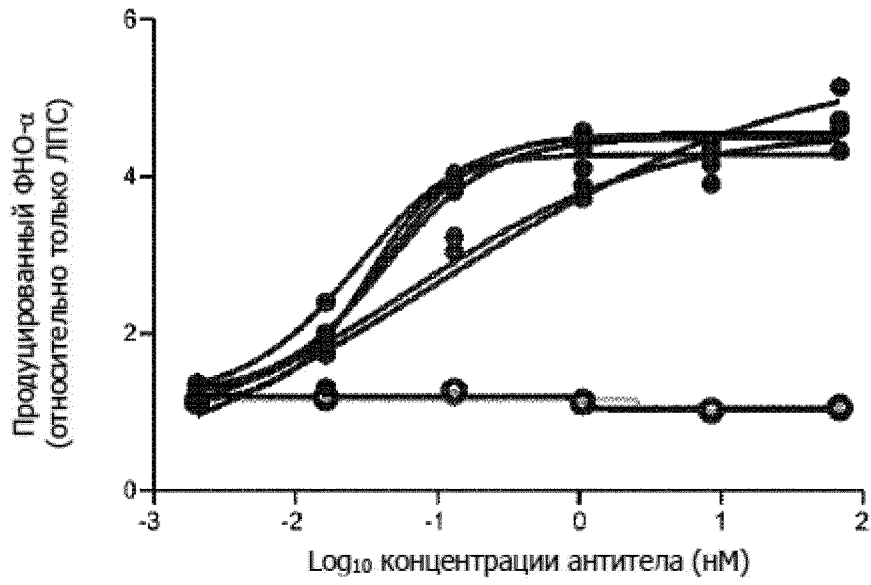
ФИГ. 13



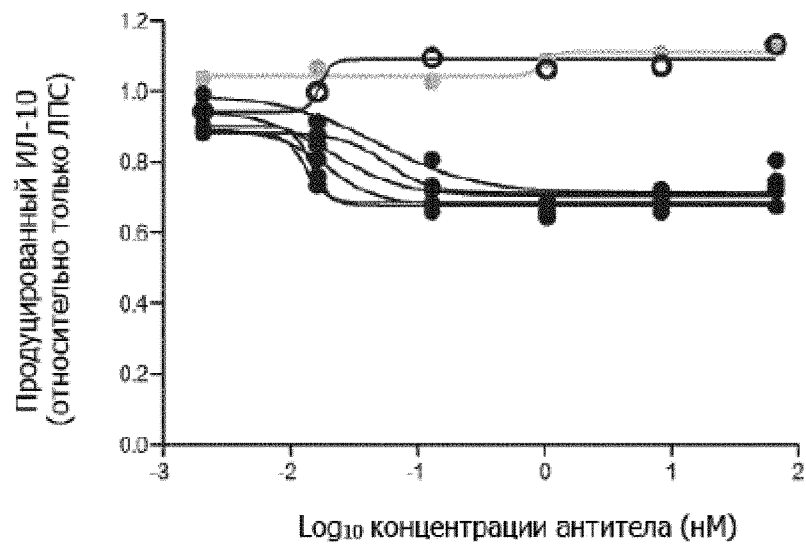
ФИГ. 14



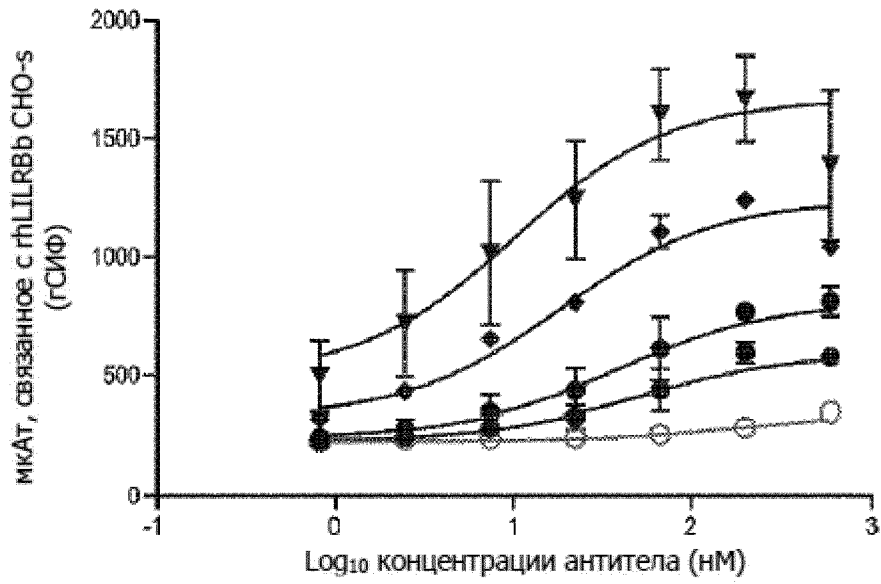
ФИГ. 15



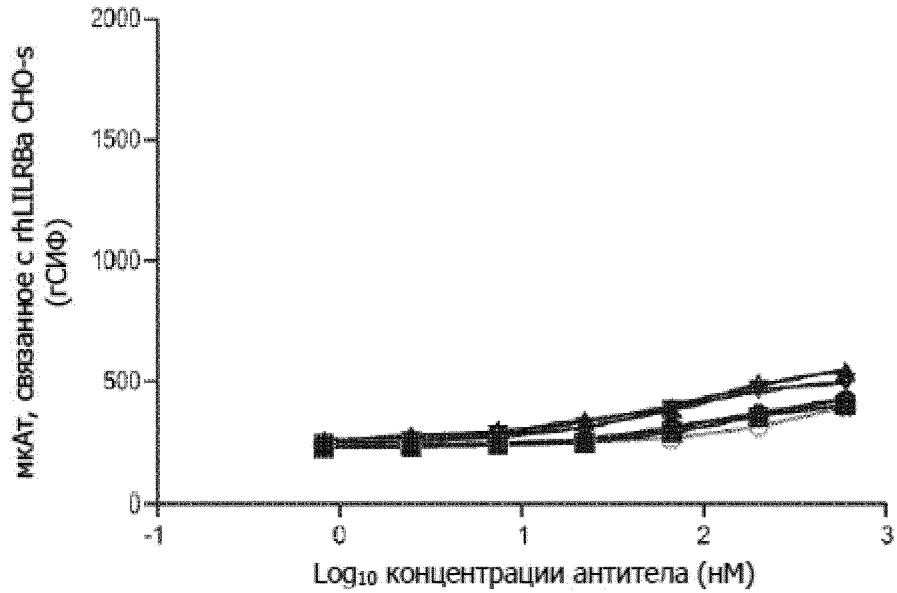
ФИГ. 16А



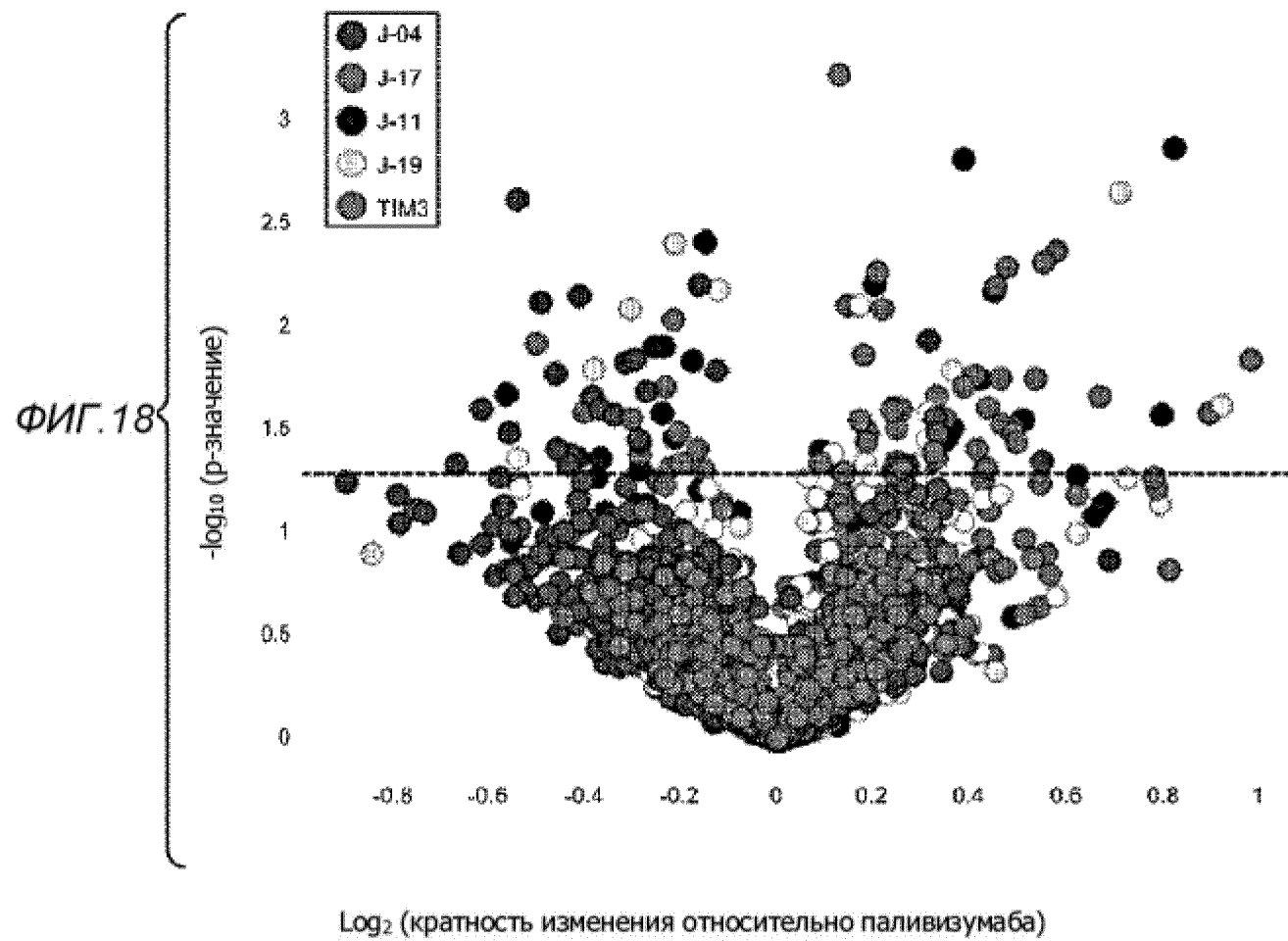
ФИГ. 16В

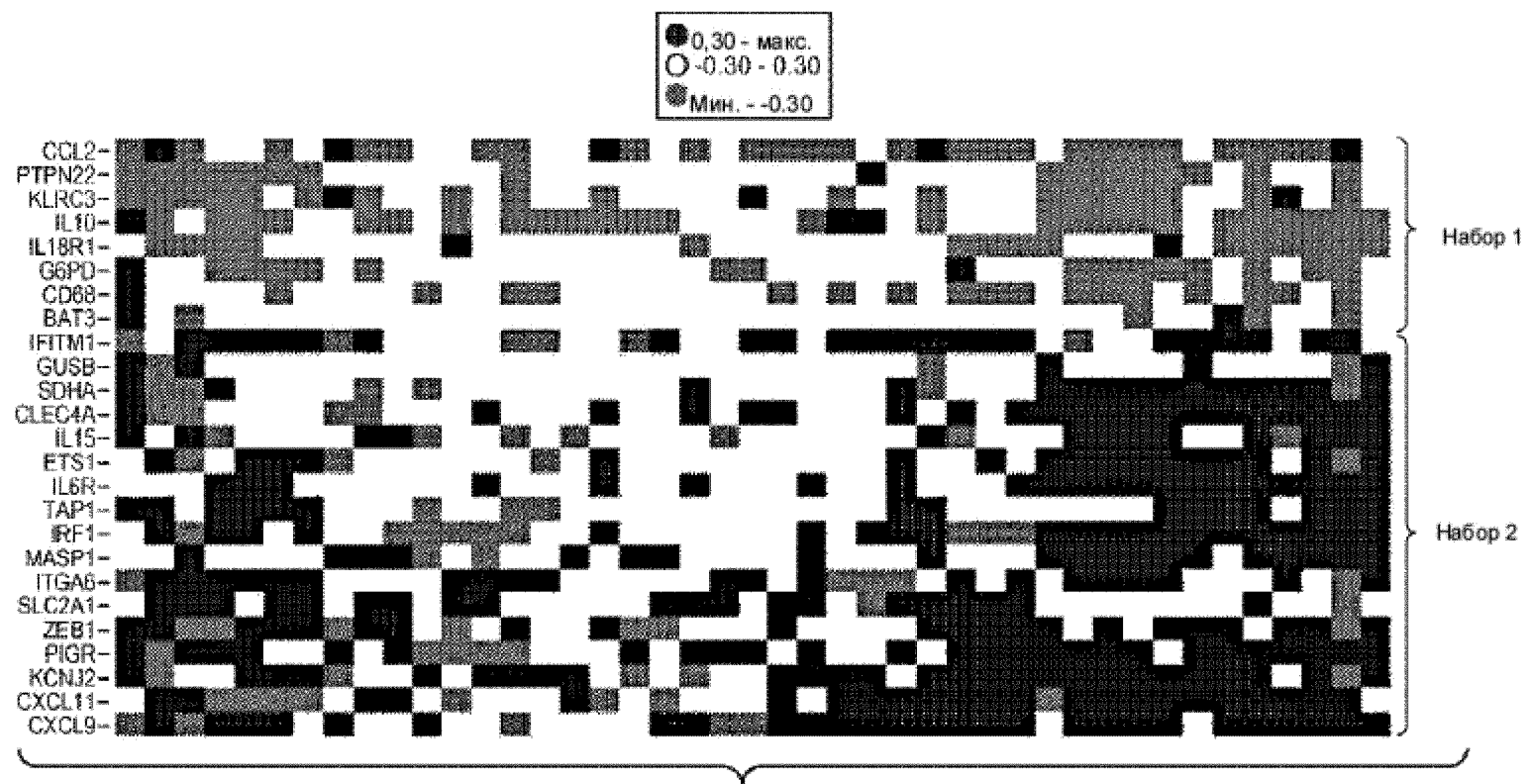


ФИГ. 17А



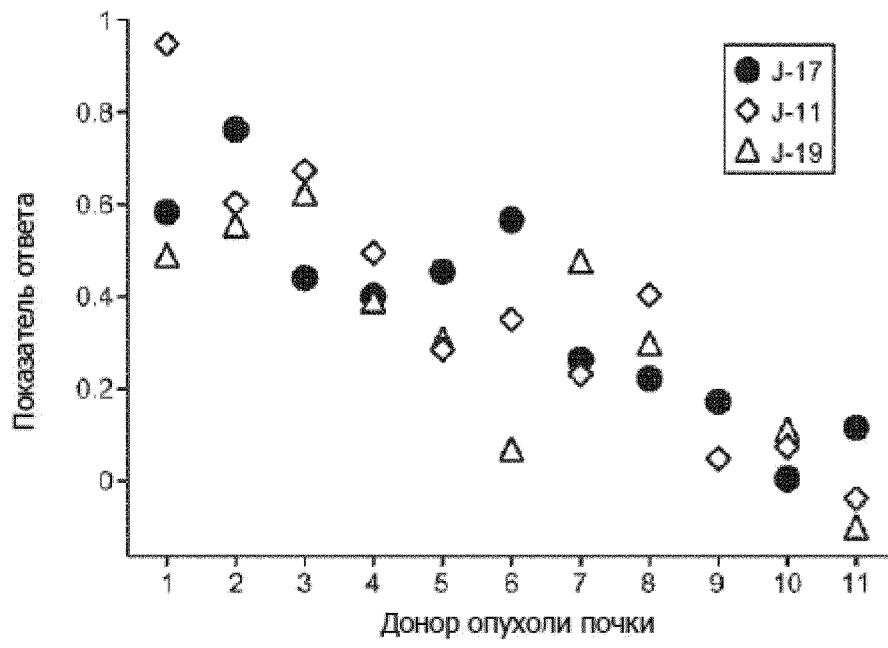
ФИГ. 17В



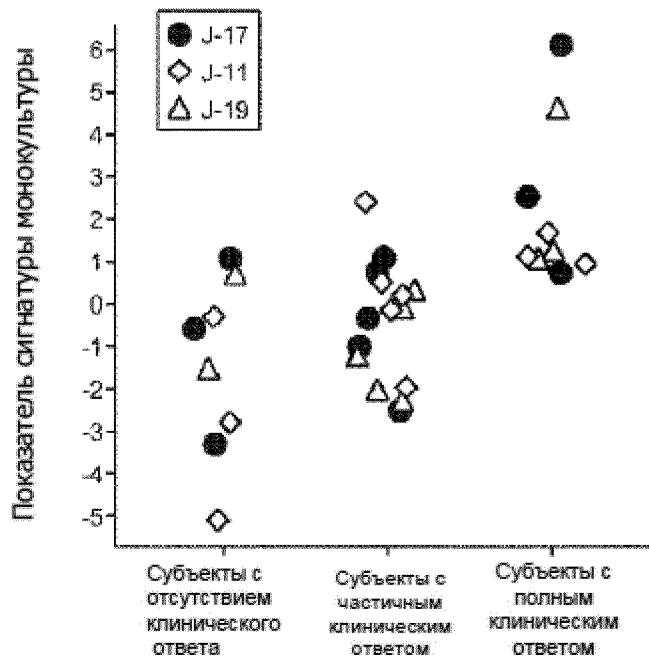


ФИГ. 19

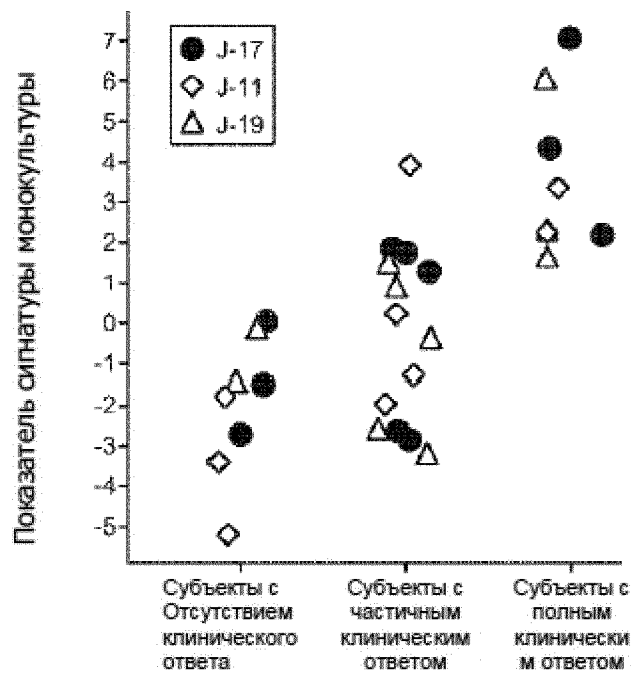




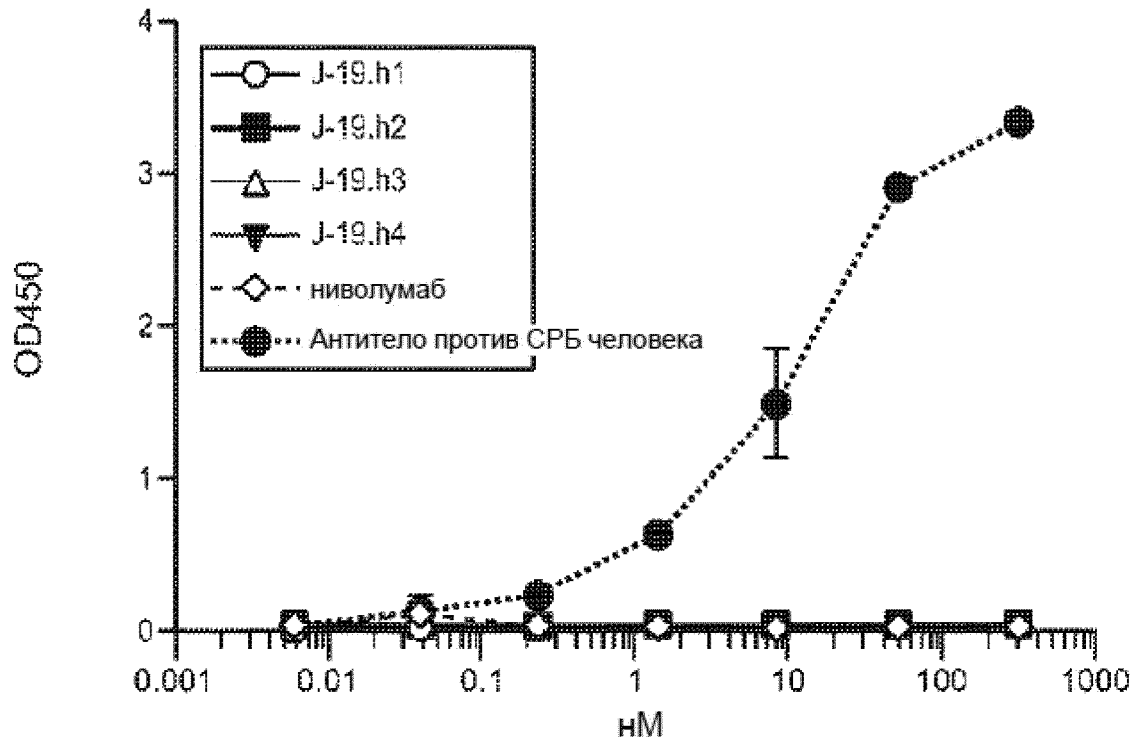
ФИГ. 20



ФИГ. 21А

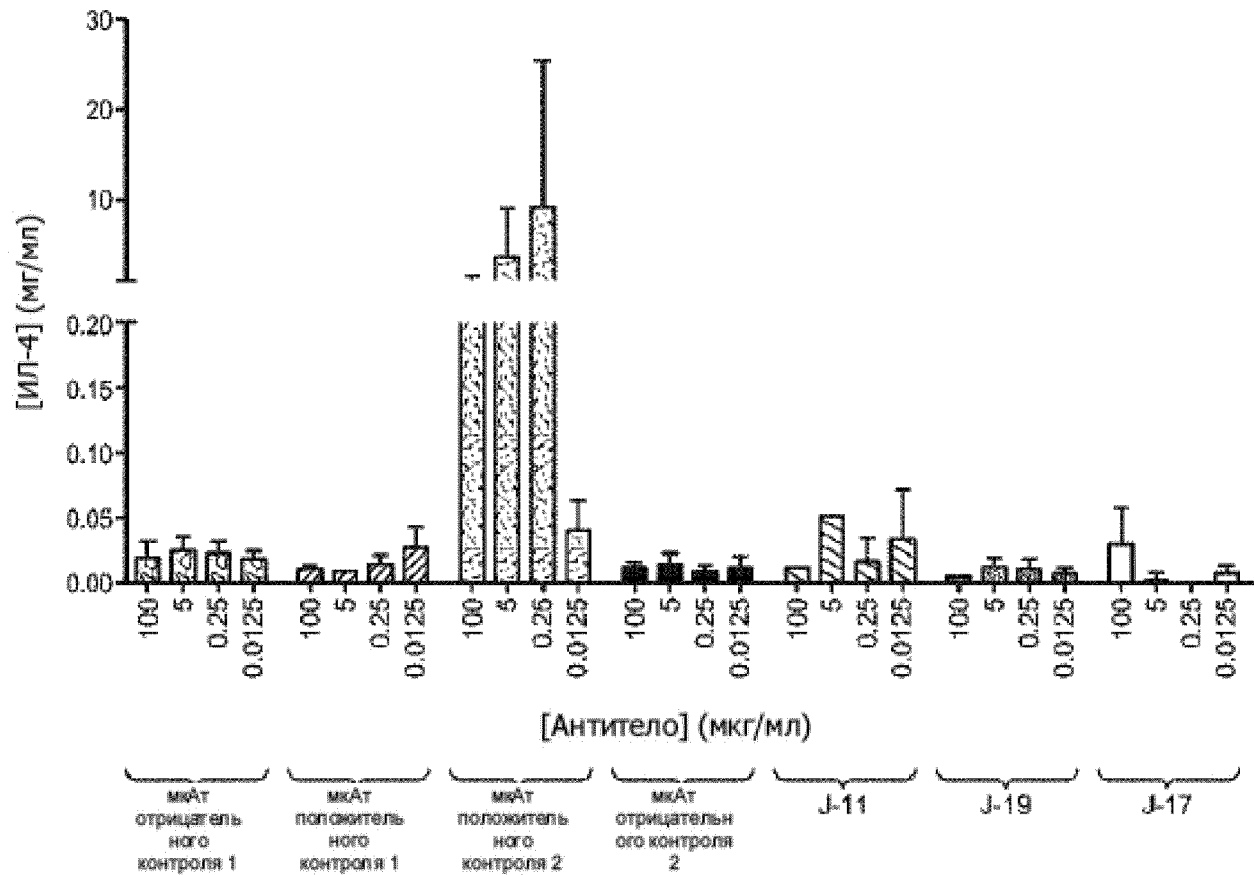


ФИГ. 21В

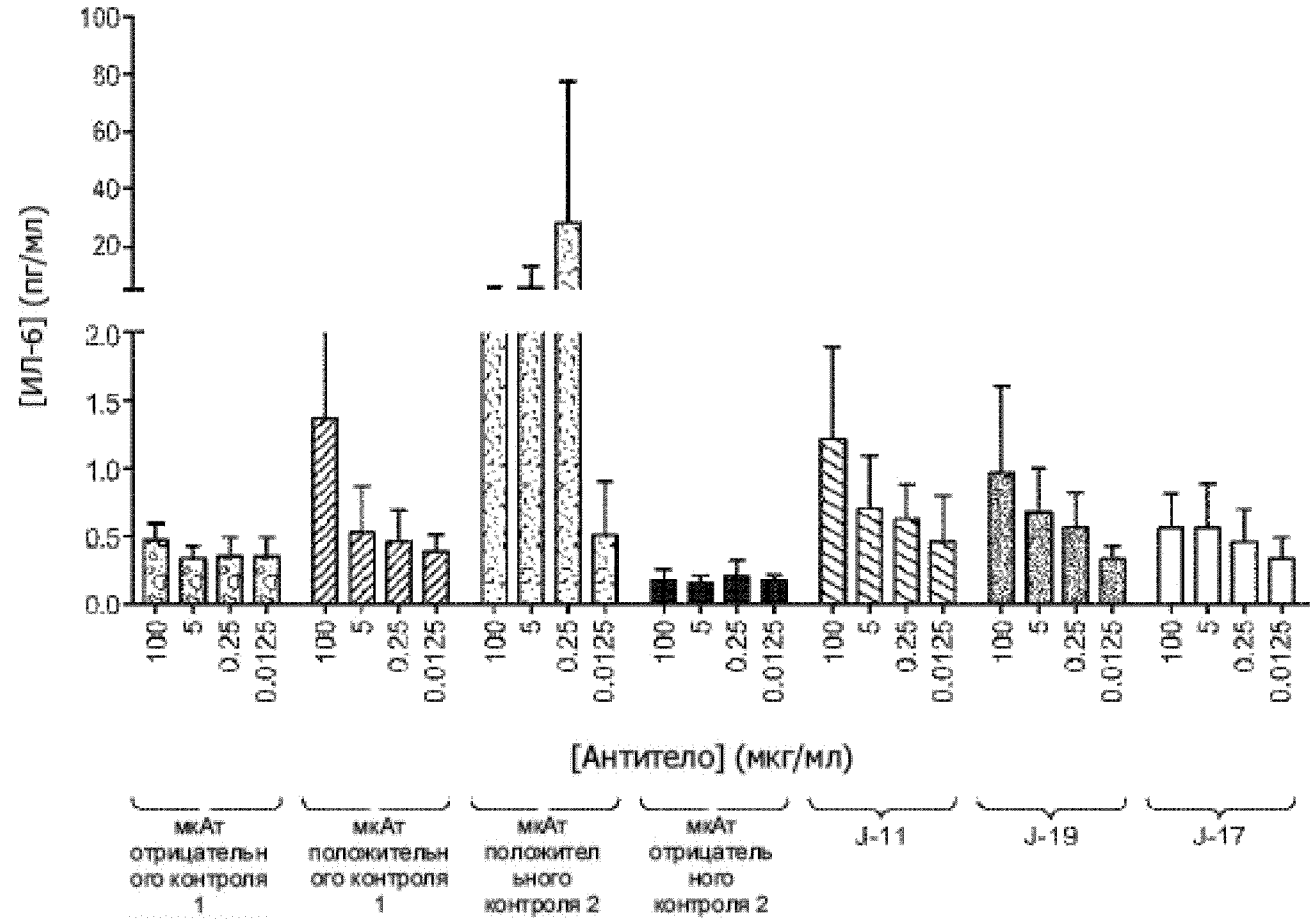


ФИГ. 22

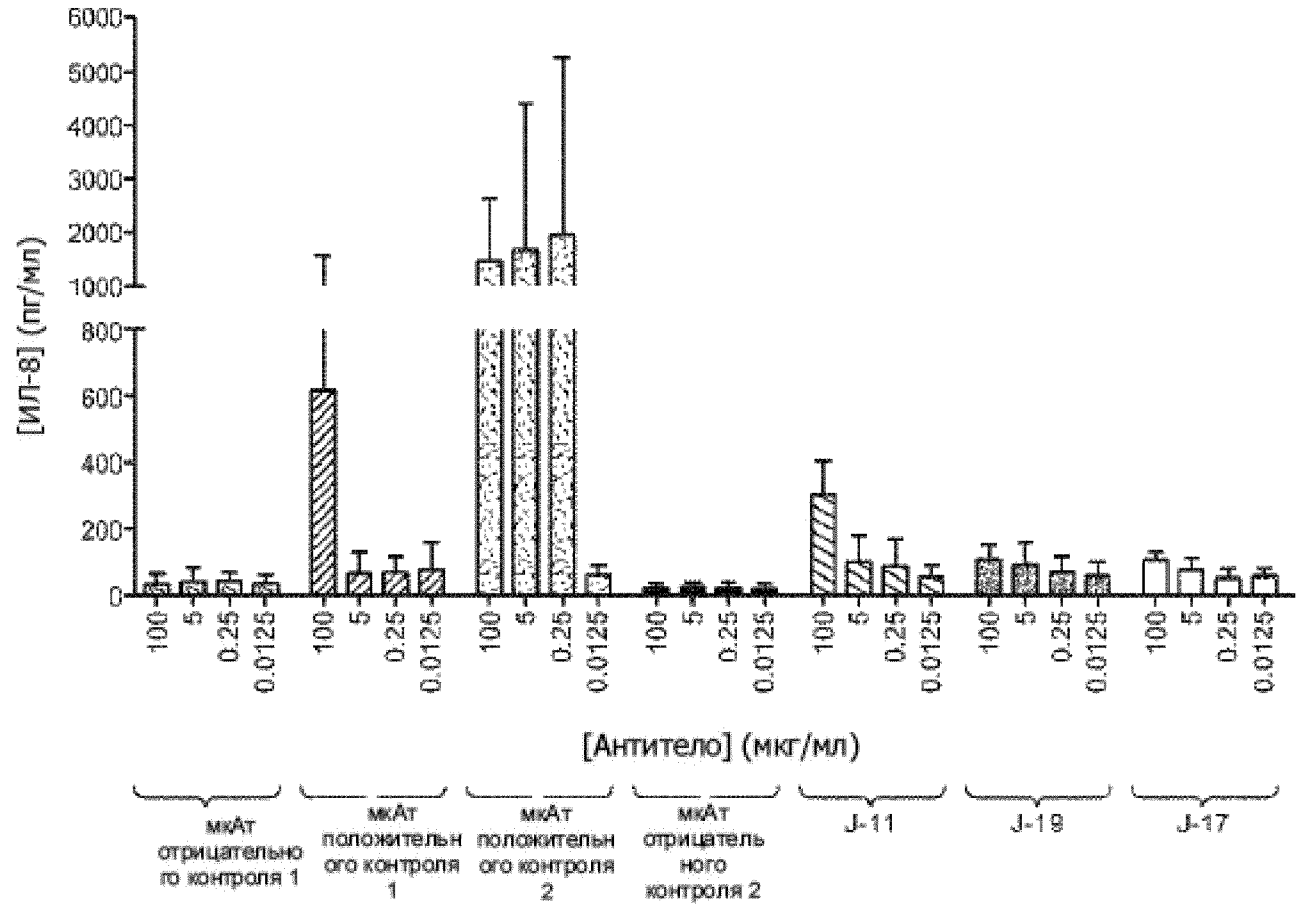
ФИГ. 23А



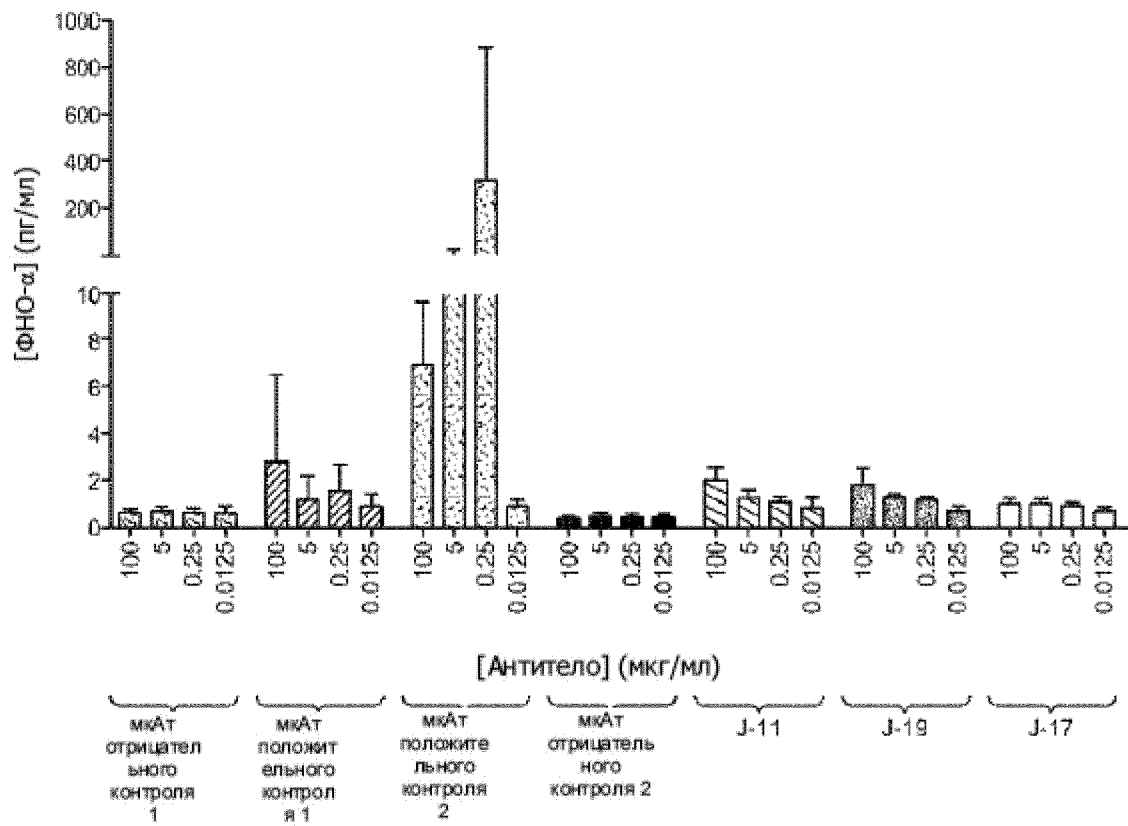
ФИГ. 23В

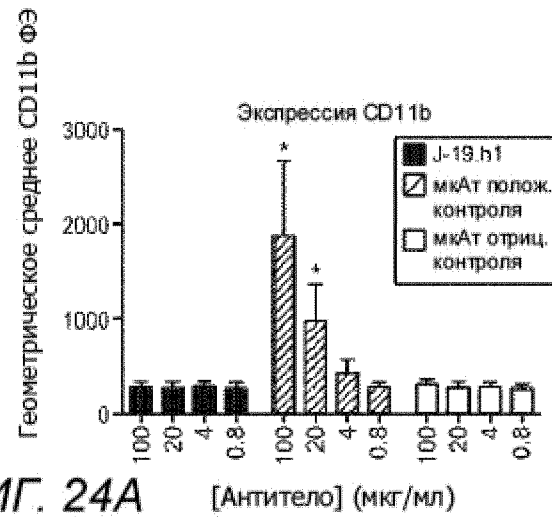


ФИГ. 23С

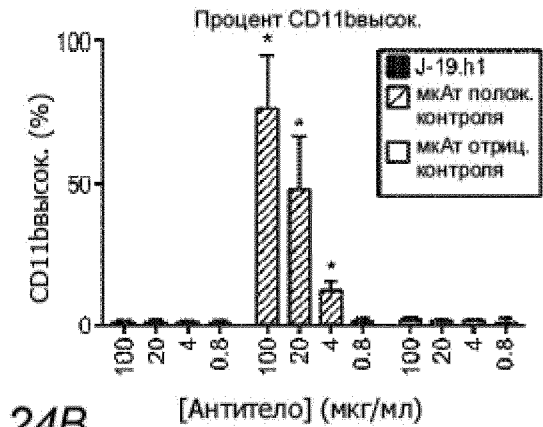


ФИГ. 23D

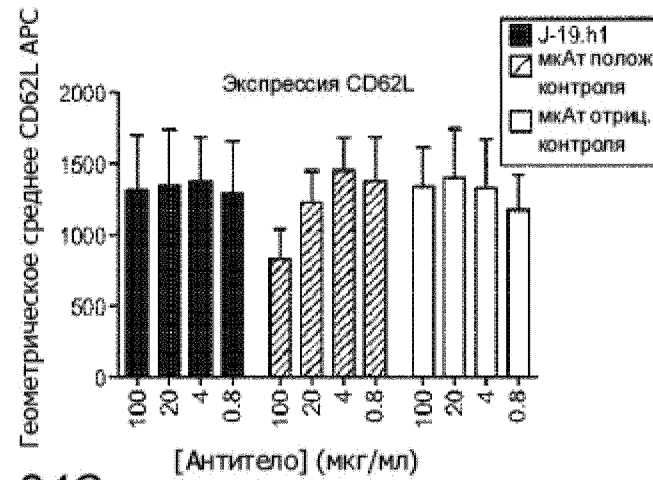




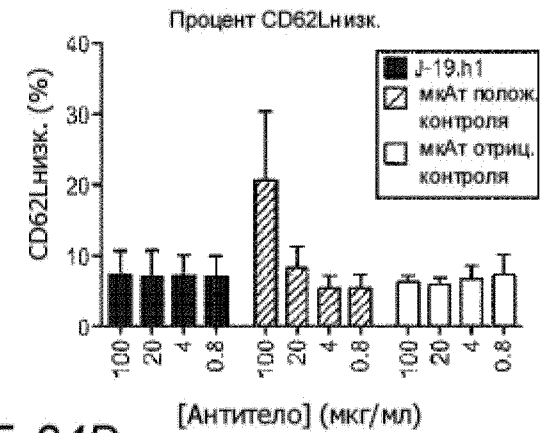
ФИГ. 24А



ФИГ. 24В

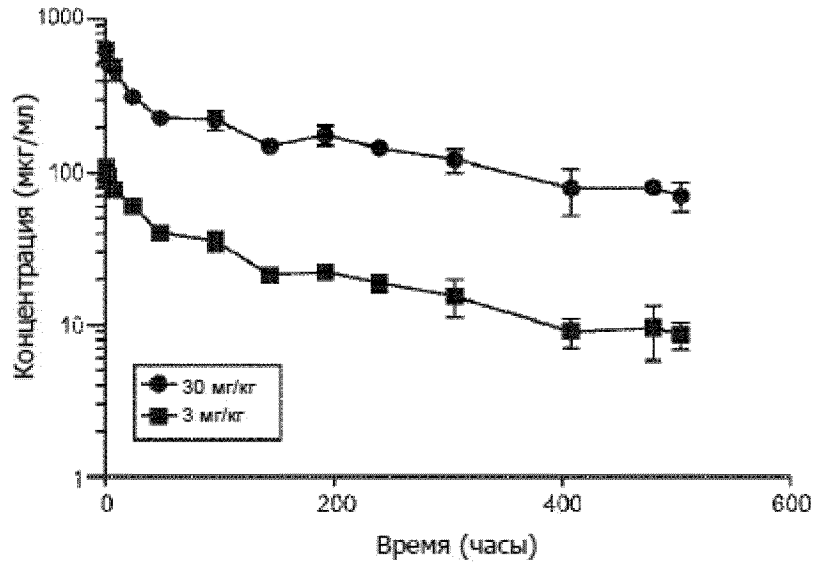


ФИГ. 24С

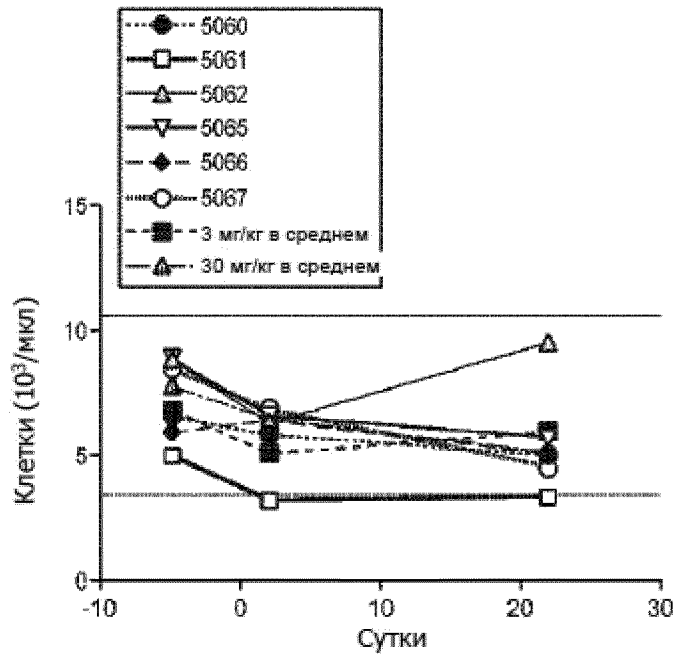


ФИГ. 24D

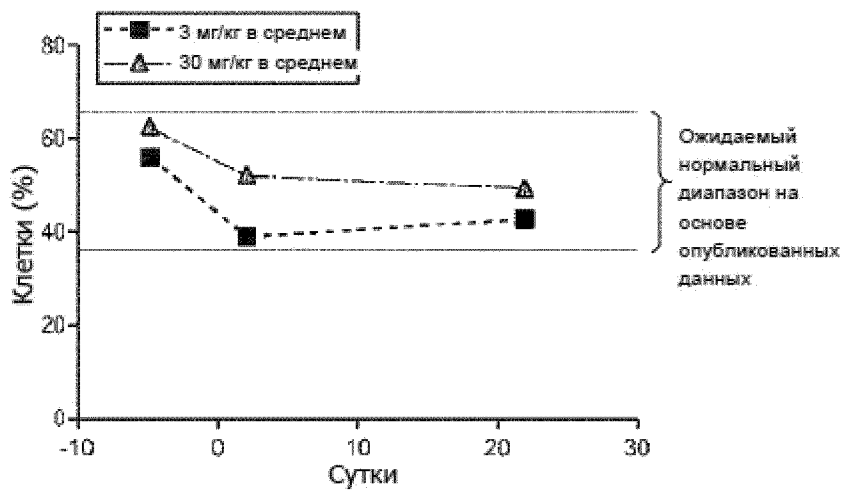




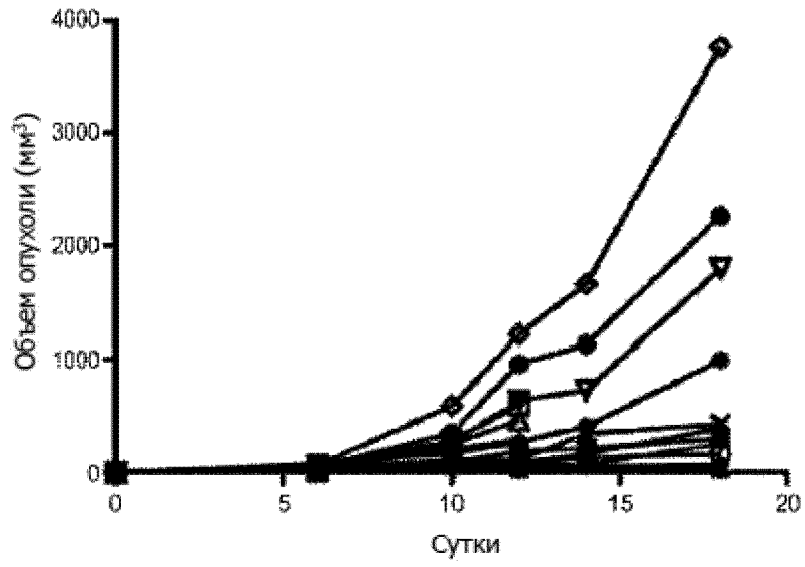
ФИГ. 25



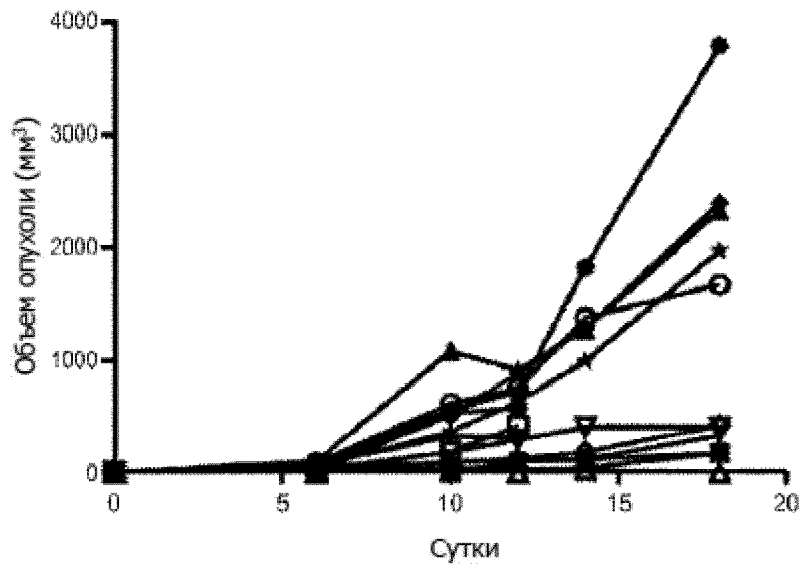
ФИГ. 26А



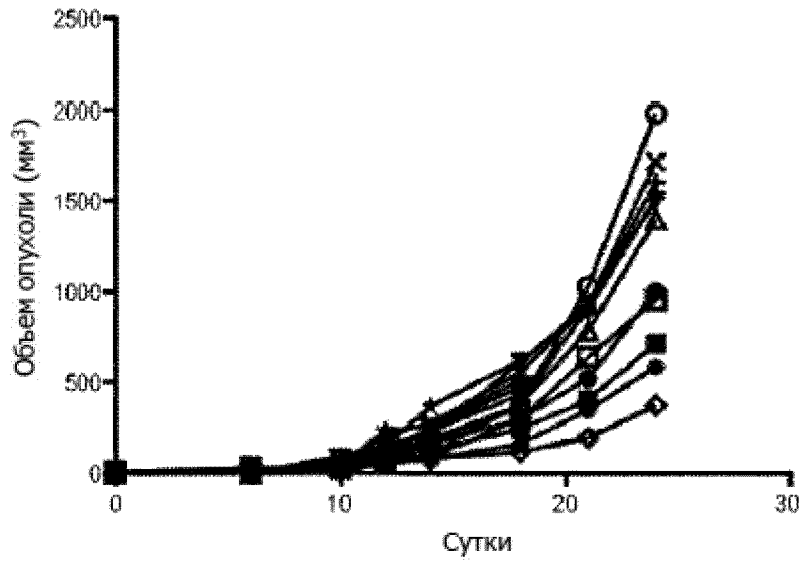
ФИГ. 26В



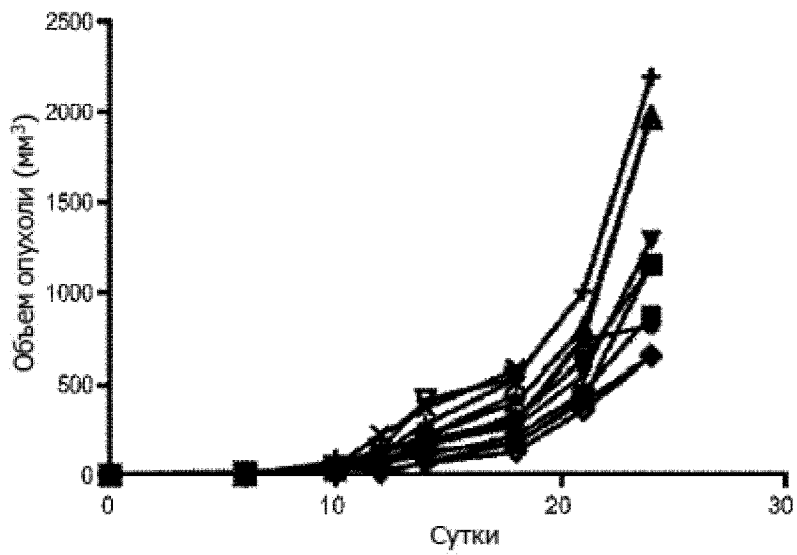
ФИГ. 27А



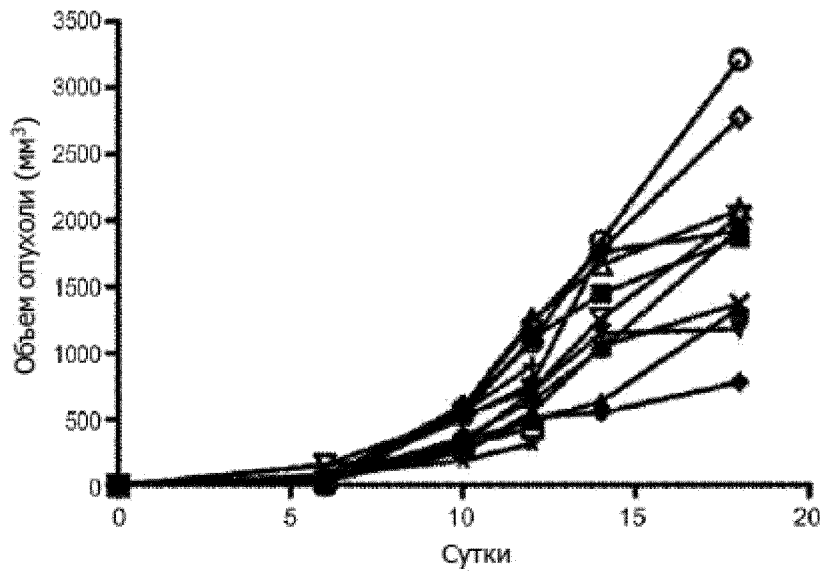
ФИГ. 27В



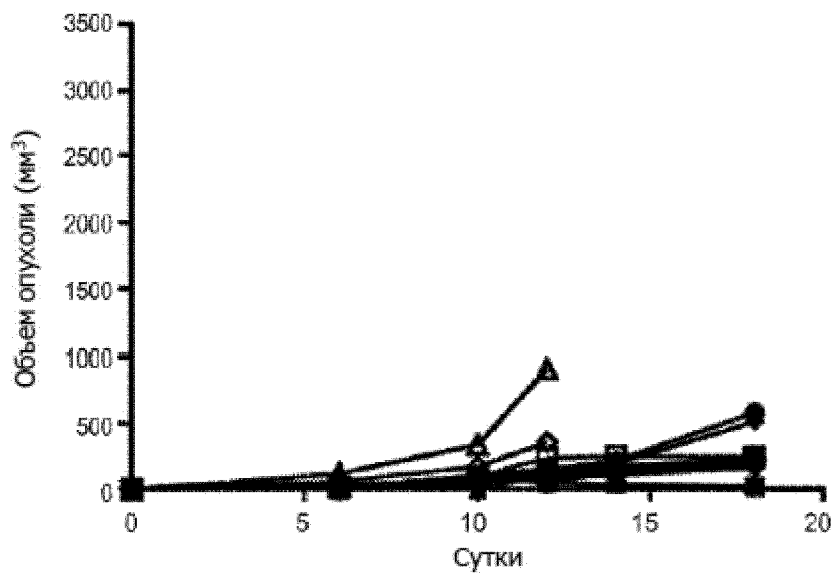
ФИГ. 28А



ФИГ. 28В



ФИГ. 29А



ФИГ. 29В

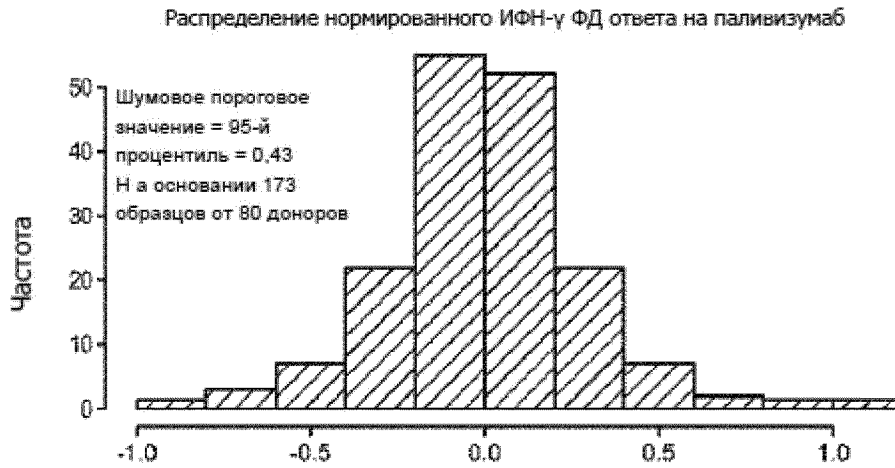
Вариабельная область тяжелой цепи J-19:h1

QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSW  
IRQPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDT  
SKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAHSRIIR\*ETDYVMDA  
WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 53)

Вариабельная область легкой цепи J-19:h1

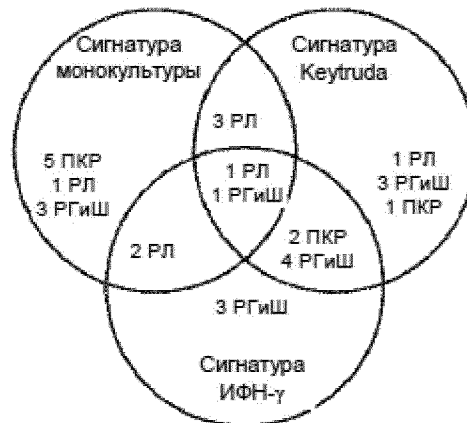
DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASEDIYNDLAWYQ  
QKPGKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTI  
SSLQPEDVATYFCQQYYDYPLTFGQGTKLEIK (SEQ  
ID NO: 54)

**ФИГ. 30**



ФИГ. 31

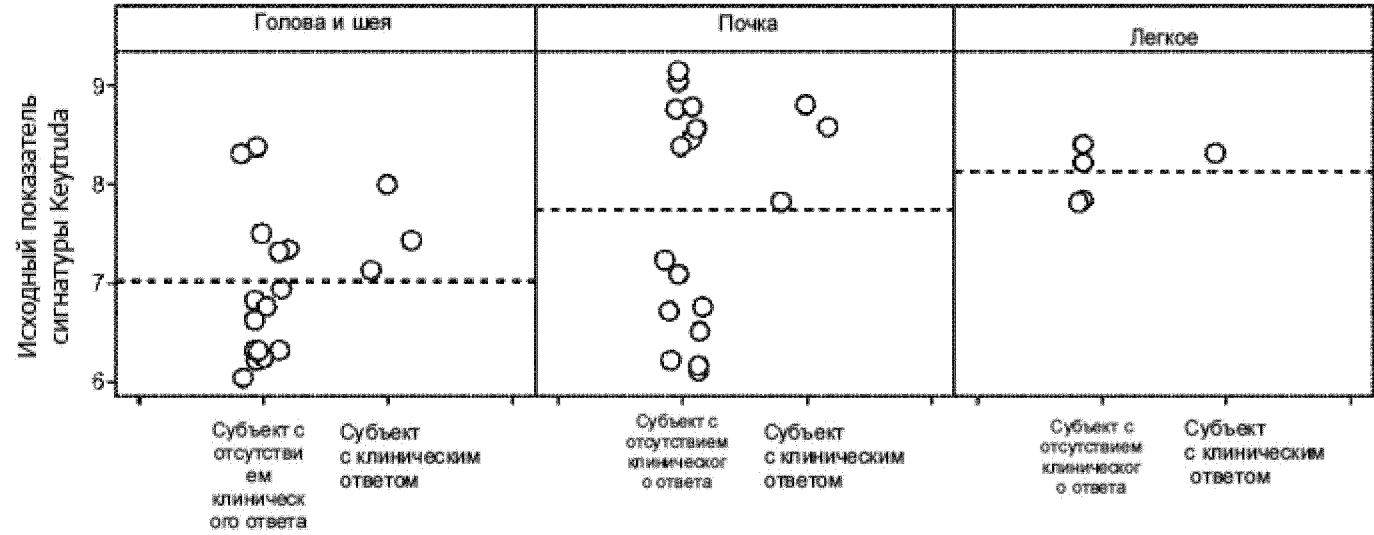
Частота ФД ответа на J-19.h1 по 3 показаниям



Обозначение	Сигнатура Монокультуры	Сигнатура Keytruda	Сигнатура ИФН-γ
Почечно-клеточный рак (ПКР)	5/44 = 11 %	3/44 = 7 %	2/44 = 5 %
Рак головы и шеи (РГиШ)	4/42 = 10 %	8/42 = 19 %	8/42 = 19 %
Рак легкого (РЛ)	7/28 = 25 %	5/28 = 18 %	3/28 = 11 %

ФИГ. 32

Исходный показатель сигнатуры Keytruda является необходимым, но недостаточным условием для ИФН-гамма ФД ответа на пембролизумаб в гистокультуре

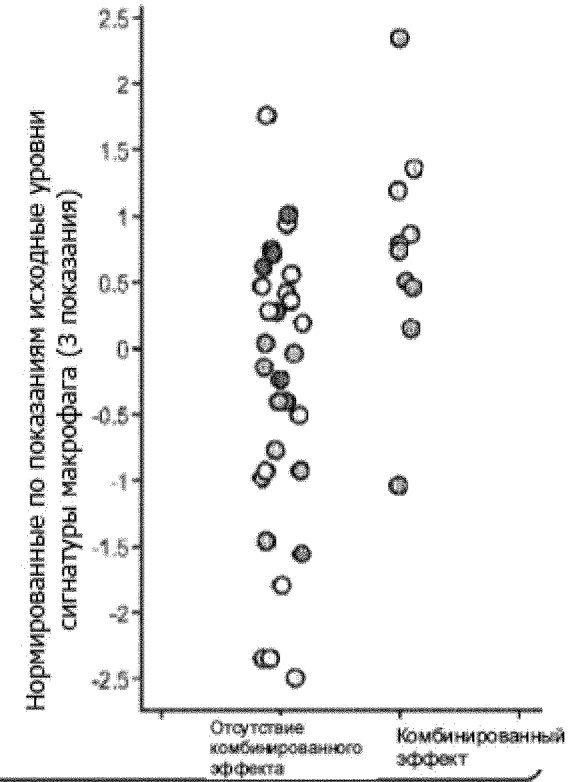


ФИГ. 33



ИФН-γ ФД ответ: Доноры опухоли головы и шеи

	J-19.h1	Пембролизумаб	J-19.h1 + Пембролизумаб
*	0,32	0,37	1,42
*	0,32	0,07	0,99
*	0,50	0,23	0,90
	0,96	0,66	0,63
	-0,07	0,82	0,53
	0,05	0,30	0,44
*	-0,33	-0,29	0,32
	0,47	1,17	0,23
	0,10	0,36	0,19
*	-0,40	-0,57	0,18
	0,31	0,12	0,10
	-0,06	0,13	-0,01
	-0,25	0,04	-0,01
+	-0,05	-0,56	-0,04
*	-0,39	-0,79	-0,17
	-0,12	-0,43	-0,21
	-0,10	-0,09	-0,48
	0,25	0,10	-0,61



ФИГ. 34