

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092595 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.04.12

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.06.07

(54) АНТИТЕЛА К SIGLEC-7 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/682,439

(32) 2018.06.08

(33) US

(86) PCT/US2019/035990

(87) WO 2019/236965 2019.12.12

(71) Заявитель:
АЛЕКТОР ЛЛС (US)

(72) Изобретатель:

Калп Патриша (US), Ли Сеунг-Джу
(KR), Лам Хелен, Хо Вей-Хсиен,
Розенталь Арнон (US)

(74) Представитель:

Джермакян Р.В., Угрюмов В.М.,
Гизатуллина Е.М., Строкова О.В.,
Лебедев В.В., Костюшенкова М.Ю.,
Гизатуллин Ш.Ф., Парамонова К.В.
(RU)

(57) Описание в целом относится к композициям, которые содержат антитела, например моноклональные, химерные, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связывают один или более эпитопов в белке Siglec-7, например Siglec-7 человека или Siglec-7 млекопитающего, и имеют усиленные и/или улучшенные функциональные характеристики, а также к применению таких композиций для предотвращения, снижения риска появления или лечения нуждающегося в этом индивидуума.

A1

202092595

202092595

A1

АНТИТЕЛА К SIGLEC-7 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] В настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке США № 62/682439, поданной 8 июня 2018 г., которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ПОДАЧА ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

[0002] Содержание следующей подачи в текстовом файле ASCII полностью включено в данный документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (имя файла: 735022002340SEQLIST.TXT, дата записи: 3 июня 2019 г., размер: 43 кб).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Настоящее описание относится к антителам к Siglec-7 и терапевтическому применению таких антител.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Связывающий сиаловую кислоту Ig-подобный лектин-7 (Siglec-7) представляет собой иммуноглобулиноподобный трансмембранный белок 1-го типа, экспрессируемый на иммунных и гематопозитических клетках, включая незрелые и зрелые миелоидные клетки, такие как моноциты, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки и микроглиальные клетки, а также лимфоидные клетки, такие как естественные клетки-киллеры, и субпопуляции Т-клеток (Crocker *et al.* (2007) *Nat Rev Immunol.* 7:255–266; Angata and Varki (2000) *Glycobiology* 10:4: 431-438, Nicoll *et al.* (1999) *JBC* 274:48: 34089-34095; Falco *et al.* (1999) *J. Exp. Med.* 190: 793-802).

[0005] Siglec-7 содержит внеклеточный N-концевой Ig-подобный (иммуноглобулиноподобный) домен V-типа, два Ig-подобных домена C2-типа, а также один консенсусный мотив ИТИМ и несоответствующий мембранно-дистальный ИТИМ-подобный мотив в его цитоплазматическом домене. Было показано, что Siglec-7 связывает эритроциты зависимым от сиаловой кислоты образом из-за потери связывания при обработке сиалидазой. Считается, что связывание опосредуется связями $\alpha 2$ -3 или $\alpha 2$ -6 сиаловой кислоты (Nicoll *et al.* (1999) *JBC* 274:48: 34089-34095; Angata and Varki (2000) *Glycobiology* 10:4: 431-438). Дальнейшее исследование продемонстрировало, что Siglec-7 более активно связывает $\alpha 2$ -8 дисиалиловых остатков с аффинностью 10 нМ и демонстрирует более высокую аффинность к разветвленным $\alpha 2$ -6 сиалиловым остаткам по сравнению с концевыми $\alpha 2$ -3 или $\alpha 2$ -6 сиаловыми кислотами (Yamaji (2002) *J. Biol. Chem.* 277:8 6324-6332). *In vivo* лиганды Siglec-7 экспрессируются на ганглиозидах b-серии, например, GD2, GD3 и GT1b, которые можно найти на клетках центральной нервной системы, клетках меланомы и субпопуляциях Т-клеток (Urmacher *et al.* (1989) *Am. J. Dermatopathol.* 11: 577-581, Knier *et al.* (1993) *Blood* 82: 1776-1786). Кристаллическая структура с высоким разрешением N-концевого Ig-подобного домена V-типа Siglec-7 предполагает, что специфичность связывания остатков лиганда членов семейства Siglec находится в вариательной C-C' петле (Alphey *et al.* (2003) *J. Biol. Chem.* 278:5 3372-3377).

[0006] Множественные исследования указывают на ингибирующую роль Siglec-7 в функции естественных клеток-киллеров, регуляции сигналинга Т-клеточного рецептора и ослабления сигналинга в ДК (Crocker *et al.*, (2012) *Ann. N Y Acad. Sci.* 1253, 102–111; Pillai *et al.*, (2012) *Annu. Rev. Immunol.* 30, 357–392; von Gunten and Bochner (2008) *Ann. N Y Acad. Sci.* 1143, 61–82; Ikehara *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.* 279:41

43117-43125; Nicoll *et al.* (2003) *Eur. J. Imm.* 33:6:1642-1648; Hudak *et al.* (2013) *Nat. Chem. Biol.*; Bax *et al.* (2007) *J. Imm* 179: 12: 8216-8224; Lock *et al.* (2004) *Immunobiology* 209: 1-2:199-207). Функциональные исследования естественных клеток-киллеров продемонстрировали, что опухолевые клетки, экспрессирующие Siglec-7, связывающие лиганды сиаловой кислоты, ингибируют активацию NK-клеток и уничтожение опухолевых клеток. Многие опухоли человека устойчиво повышают экспрессию лигандов сиаловой кислоты, что способствует ускользанию от иммунологического надзора и прогрессированию злокачественного новообразования (Jandus *et al.* (2014) *J. Clin. Invest.* 124:4: 1810-1820). Более того, Hudak *et al.* выполнили гликокаликсную инженерию и продемонстрировали, что клетки, покрытые синтетическими сиалозидными гликополимерами, защищены от цитотоксичности NK-клеток. Предполагается, что увеличение количества сиаловой кислоты в опухолях способствует состоянию «сверх-Я» (англ.: super self), которое сильно подавляет иммунный надзор естественных клеток-киллеров (Macauley and Paulson (2014) *Nat. Chem. Biol.* 10:1: 7-8).

[0007] Явного мышинового гомолога Siglec-7 не существует; тем не менее, Siglec-E мыши является на 53% аналогичным, следовательно, представляет собой наиболее близкородственный белок Siglec. У мышей генетическая инактивация Siglec-E не приводит к очевидным аномалиям развития, гистологическим или поведенческим отклонениям; а мыши с дефицитом Siglec-E размножаются нормально, что указывает на то, что Siglec-E не является важным геном и что его функция может быть ограничена врожденным иммунитетом (McMillan *et al.* (2013) *Blood* 121:11: 2084-2094). При стимуляции мышей с дефицитом Siglec-E аэрозольным ЛПС было продемонстрировано усиление рекрутирования нейтрофилов в легкие, которое можно было обратить вспять блокадой $\beta 2$ -интегрина CD11b. Было показано, что нейтрофилы с недостаточностью Siglec-E обладают повышенным фосфорилированием Syk и p38 MAPK CD11b-зависимым образом. Эти данные свидетельствуют о том, что Siglec-E подавляет рекрутирование нейтрофилов в модели острого воспаления легких (McMillan *et al.* (2013) *Blood* 121:11: 2084-2094).

[0008] В онкологии Siglec-7 был предложен в качестве терапевтической мишени для лечения хронического и острого миелоидного лейкоза, поскольку сшивание Siglec-7 ингибирует пролиферацию клеток (Vitale *et al.* (1999) *PNAS* 96: 15091-15096; Vitale *et al.* (2001) *PNAS* 98:10: 5764-5769). Также было показано, что активность Siglec-7 ингибирует цитокин-индуцированную клеточную пролиферацию (Org *et al.* (2007) *J. Biol. Chem.* 282: 3418-3422).

[0009] Антитела к Siglec-7 были описаны, например, в WO2011038301, Jandus *et al.* (2014) *J. Clinical Invest.* 124:4: 1810-1820, Varchetta *et al.* (2012) *PLOS One* 7: 9: e45821 *et al.* (2012). Falco *et al.* (1999) *J. Exp. Med.* 190: 793-802, Nicoll *et al.* (1999) *JBC* 274:48: 34089-34095, Nicoll *et al.* (2003) *Eur. J. Imm.* 33: 1642-1648. Однако эти антитела не обладают функциональными характеристиками, необходимыми для терапевтического антитела.

[0010] Соответственно, существует потребность в терапевтических антителах, которые специфически связывают Siglec-7 и снижают экспрессию Siglec-7 на поверхности клетки, уменьшают взаимодействия между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7, и/или уменьшают одну или более активностей Siglec-7 для лечения одного или более заболеваний, расстройств и патологических состояний, связанных с нежелательной активностью Siglec-7.

[0011] Все ссылки, цитируемые в данном документе, включая патенты, заявки на патенты и публикации, полностью включены в данный документ посредством ссылок.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0012] Настоящее раскрытие в целом относится к композициям, которые содержат антитела, например, моноклональные, химерные, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связывают Siglec-7 человека и к способам применения таких композиций.

[0013] Некоторые аспекты настоящего описания основаны, по меньшей мере частично, на идентификации антител к Siglec-7 с усиленными и/или улучшенными функциональными характеристиками (например, по сравнению с антителом к Siglec-7 с вариательной областью тяжелой цепи, содержащей последовательность SEQ ID NO: 61, и вариательной областью легкой цепи, содержащей последовательность SEQ ID NO: 62). Некоторые аспекты настоящего описания основаны, по меньшей мере частично, на идентификации антител к Siglec-7 с усиленными и/или улучшенными функциональными характеристиками (например, по сравнению с антителом к Siglec-7 с вариательной областью тяжелой цепи, содержащей последовательность SEQ ID NO: 38, и вариательной областью легкой цепи, содержащей последовательность SEQ ID NO: 50), включая, например, усиленную и/или улучшенную способность снижения уровней Siglec-7 на клеточной поверхности на первичных иммунных клетках человека и/или, усиленную и/или улучшенную кинетику связывания. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют K_D для Siglec-7 человека, которая в по меньшей мере 100 раз ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют K_D для человеческого Siglec-7, которая в по меньшей мере 5,3 раза ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

[0014] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , которая в по меньшей мере около 50% ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , которая в по меньшей мере около 10% ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, по данным измерения с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления антитело в по меньшей мере 4,2 раза более активно, чем антитело к Siglec-7, содержащее вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; или в по меньшей мере 1,4 раза более активно, чем антитело к Siglec-7, содержащее вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, по данным измерения с помощью проточной цитометрии. Преимущественно антитела к Siglec-7 снижают клеточные уровни Siglec-7 *in vitro* с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая колеблется от около 33,2 пМ до около 25,4 нМ, связываются с

человеческими клетками (такими как первичные дендритные клетки человека) и имеют константу диссоциации (K_D) Siglec-7 человека, которая находится в диапазоне от около 124 нМ до около 1 пМ.

[0015] Соответственно, в одном аспекте настоящее описание относится к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: HVR-H1, содержащую последовательность в соответствии с формулой I: GYAFTX₁X₂WMN (SEQ ID NO: 6), где X₁ представляет собой E, M, G, или A, и X₂ представляет собой T, A, или Y; HVR-H2, содержащую последовательность в соответствии с формулой II: RIFPGX₁GHTN (SEQ ID NO: 9), где X₁ представляет собой L или Y; и HVR-H3, содержащую последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10).

[0016] В другом аспекте настоящее описание относится к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит: HVR-L1, содержащую последовательность в соответствии с формулой III: RX₁SX₂DX₃NTYLN (SEQ ID NO: 15), где X₁ представляет собой G или A, X₂ представляет собой Q или E, и X₃ представляет собой I, T, или A; HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16); и HVR-L3, содержащую последовательность в соответствии с формулой IV: QX₁GX₂X₃X₄PWT (SEQ ID NO: 24), где X₁ представляет собой Q или G, X₂ представляет собой N или G, X₃ представляет собой L, T, V, или I, и X₄ представляет собой L или K; и при этом антитело не представляет собой антитело, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащую последовательность RASQDINTYLN (SEQ ID NO: 65), HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20).

[0017] В другом аспекте настоящее описание относится к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит: HVR-H1, содержащую последовательность в соответствии с формулой I: GYAFTX₁X₂WMN (SEQ ID NO: 6), где X₁ представляет собой E, M, G, или A, и X₂ представляет собой T, A, или Y; HVR-H2, содержащую последовательность в соответствии с формулой II: RIFPGX₁GHTN (SEQ ID NO: 9), где X₁ представляет собой L или Y; и HVR-H3, содержащую последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10); и переменную область легкой цепи содержит: HVR-L1, содержащую последовательность в соответствии с формулой III: RX₁SX₂DX₃NTYLN (SEQ ID NO: 15), где X₁ представляет собой G или A, X₂ представляет собой Q или E, и X₃ представляет собой I, T, или A; HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16); и HVR-L3, содержащую последовательность в соответствии с формулой IV: QX₁GX₂X₃X₄PWT (SEQ ID NO: 24), где X₁ представляет собой Q или G, X₂ представляет собой N или G, X₃ представляет собой L, T, V, или I, и X₄ представляет собой L или K.

[0018] В другом аспекте настоящее описание относится к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит: HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-5; HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-8; и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и переменная область легкой цепи содержит: HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-14; HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и HVR-

L3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-23. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTMAWMN (SEQ ID NO: 2), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGYGHTN (SEQ ID NO: 8), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNLLPWT (SEQ ID NO: 17). В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDTNTYLN (SEQ ID NO: 12), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23). В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTAAMN (SEQ ID NO: 4), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

[0019] Другие аспекты настоящего описания относятся к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит CDR по Kabat; и/или переменная область легкой цепи содержит CDR по Kabat. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит CDR-H1, содержащую последовательность GYAFTAAMN (SEQ ID NO: 4), CDR-H2, содержащую последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7); и CDR-H3, содержащую последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10). В некоторых вариантах осуществления переменную область легкой цепи содержит CDR-L1, содержащую последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), CDR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16); и CDR-L3, содержащую последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23). В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит CDR-H1, содержащую последовательность GYAFTAAMN (SEQ ID NO: 4), CDR-H2, содержащую последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7); и CDR-H3, содержащую последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10); и переменная область легкой цепи содержит CDR-L1, содержащую последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), CDR-L2, содержащую

последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16); и CDR-L3, содержащую последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

[0020] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит одну, две, три или четыре каркасные области, выбранных из FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH, где: FR1 VH содержит последовательность QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS (SEQ ID NO: 25); FR2 VH содержит последовательность в соответствии с формулой V: WVRQAX1GQX2LEWIG (SEQ ID NO: 29), где X1 представляет собой P или R, а X2 представляет собой G или R; FR3 VH содержит последовательность YAQKFQGRATLTEDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 30); и FR4 VH содержит последовательность WGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 31); и/или легкая цепь содержит одну, две, три или четыре каркасные области, выбранных из FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL, где: FR1 VL содержит последовательность DIQMTQSPSSLSASVG DRV TITC (SEQ ID NO: 32); FR2 VL содержит последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 33); FR3 VL содержит последовательность GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 34); и FR4 VL содержит последовательность FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 35). В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит одну, две, три или четыре каркасные области, выбранных из FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH, где: FR1 VH содержит последовательность SEQ ID NO: 25; FR2 VH содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-28; FR3 VH содержит последовательность SEQ ID NO: 30; и FR4 VH содержит последовательность SEQ ID NO: 31; и/или легкая цепь содержит одну, две, три или четыре каркасные области, выбранных из FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL, где: FR1 VL содержит последовательность SEQ ID NO: 32; FR2 VL содержит последовательность SEQ ID NO: 33; FR3 VL содержит последовательность SEQ ID NO: 34; и FR4 VL содержит последовательность SEQ ID NO: 35.

[0021] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 36-48; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 49-60. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55; переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

[0022] В одном аспекте настоящее описание относится к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52. В одном аспекте настоящее описание относится к антителу, которое

связывается с белком Siglec-7, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В одном аспекте настоящее описание относится к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60. В одном аспекте настоящее описание относится к антителу, которое связывается с белком Siglec-7, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

[0023] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления антитело относится к классу IgG и имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[0024] В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях L234A, L235A и P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU; Fc-область содержит аминокислотную замену в положении N297A, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU; или Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU.

[0025] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, белок Siglec-7 представляет собой белок Siglec-7 отличного от человека примата или человека. В некоторых вариантах осуществления белок Siglec-7 представляет собой белок дикого типа. В некоторых вариантах осуществления белок Siglec-7 представляет собой встречающийся в природе вариант. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, белок Siglec-7 экспрессируется на одной или более клетках, выбранных из группы, состоящей из дендритных клеток человека, макрофагов человека, моноцитов человека, остеокластов человека, нейтрофилов человека, естественных клеток-киллеров (NK) человека, Т-клеток человека, Т-хелперов человека, цитотоксических Т-клеток человека, гранулоцитов человека и микроглии человека.

[0026] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело специфически связывается с белком Siglec-7 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с белком Siglec-7 человека и не вступает в перекрестную реакцию с ортологом или гомологом Siglec-7 другого вида. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки на белке Siglec-7 отличного от человека примата или на белке Siglec-7 человека. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с одним или более белками человека, выбранными из группы, состоящей из Siglec-7 человека, встречающегося в природе варианта Siglec-7 человека и связанного с заболеванием варианта Siglec-7 человека. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела сшит

со вторым фрагментом антитела, который связывается с одним или более белками человека, выбранными из группы, состоящей из Siglec-7 человека, встречающегося в природе варианта Siglec-7 человека и связанного с заболеванием варианта Siglec-7 человека. В некоторых вариантах осуществления фрагмент представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv.

[0027] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело представляет собой гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах осуществления первый антиген представляет собой Siglec-7, а второй антиген представляет собой: антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер; антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер, выбранный из группы, состоящей из следующего: трансферриновый рецептор (TR), инсулиновый рецептор (HIR), рецептор инсулиноподобного ростового фактора (IGFR), белки, связанные с рецептором липопротеинов низкой плотности, 1 и 2 (LPR-1 и 2), рецептор дифтерийного токсина, CRM197, однодоменное антитело ламы, TMEM 30(A), домен трансдукции белка, TAT, Syn-B, пенетратин, полиаргининовый пептид, пептид Ангиопеп, и ANG1005; вызывающий заболевание агент, выбранный из группы, состоящей из вызывающих заболевание пептидов или белков и патологических нуклеиновых кислот, где вызывающие заболевание пептиды или белки выбраны из группы, состоящей из следующего: бета-амилоид, олигомерный бета-амилоид, бета-амилоидные бляшки, белок-предшественник амилоида или их фрагменты, Тау, IAPP, альфа-синуклеин, TDP-43, белок FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосома 9), белок c9RAN, прионный белок, PrPSc, хантингтин, кальцитонин, супероксиддисмутаза, атаксин, атаксин 1, атаксин 2, атаксин 3, атаксин 7, атаксин 8, атаксин 10, тельце Леви, атриальный натрийуретический пептид, островковый амилоидный полипептид, инсулин, аполипопротеин AI, сывороточный амилоид A, супероксиддисмутаза (SOD), медин, пролактин, транстиретин, лизоцим, бета 2 микроглобулин, гельзолин, кератоэпителин, цистатин, AL легкая цепь иммуноглобулина, белок S-IBM, продукты ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), пептиды с дипептидным повтором (DPR), пептиды с глицин-аланиновым повтором (GA), пептиды с глицин-пролиновым повтором (GP), пептиды с глицин-аргининовым повтором (GR), пептиды с пролин-аланиновым повтором (PA), убиквитин, и пептиды с пролин-аргининовым повтором (PR), и вызывающие заболевание нуклеиновые кислоты представляют собой антисмысловую РНК с экспансией GGCCCC-повтора (G2C4); лиганд и/или белки, экспрессируемые на иммунных клетках, причем лиганд и/или белок выбран из группы, состоящей из следующего: CD33, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, CSF1-рецептор, и фосфатидилсерин; или белок, липид, полисахарид или гликолипид, экспрессируемый на одной или более опухолевых клетках.

[0028] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело используется в комбинации с одним или более антителами, которые специфически связываются с вызывающим заболевание агентом, выбранным из группы, состоящей из следующего: вызывающие заболевание пептиды, вызывающие заболевание белки, бета-амилоид,

олигомерный бета-амилоид, бета-амилоидные бляшки, белок-предшественник амилоида или их фрагменты, Tay, IAPP, альфа-синуклеин, TDP-43, белок FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосома 9), прионный белок, PrPSc, хантингтин, кальцитонин, супероксиддисмутаза, атаксин, атаксин 1, атаксин 2, атаксин 3, атаксин 7, атаксин 8, атаксин 10, тельце Леви, атриальный натрийуретический пептид, островковый амилоидный полипептид, инсулин, аполипопротеин AI, сывороточный амилоид A, медин, пролактин, транстиретин, лизоцим, бета 2 микроглобулин, гельзолин, кератоэпителин, цистатин, AL легкая цепь иммуноглобулина, супероксиддисмутаза (SOD), белок S-IBM, продукты ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), пептиды с дипептидным повтором (DPR), пептиды с глицин-аланиновым повтором (GA), пептиды с глицин-пролиновым повтором (GP), пептиды с глицин-аргининовым повтором (GR), пептиды с пролин-аланиновым повтором (PA), убиквитин, и пептиды с пролин-аргининовым повтором (PR), и любая их комбинация; или с одним или более антителами, которые связывают иммуномодулирующий белок, выбранный из группы, состоящей из следующего: CD33, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR3, DR5, CD39, CD70, CD73, LAG3, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, CSF1-рецептор, фосфатидилсерин, вызывающие заболевание нуклеиновые кислоты, антисмысловая РНК с экспансией GGCCCC-повтора (G2C4) и любая их комбинация.

[0029] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело имеет константу диссоциации (K_D) в отношении Siglec-7 человека, которая в по меньшей мере 4 раза ниже, чем у антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; или в по меньшей мере 1 раз ниже, чем у антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, причем K_D определяют с помощью биослойной интерферометрии. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело имеет константу диссоциации (K_D) в отношении Siglec-7 человека, которая находится в диапазоне от около 124 нМ до около 1 пМ, или менее около 1 пМ, и причем K_D определяют с помощью биослойной интерферометрии.

[0030] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из предыдущих вариантов осуществления, антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления Siglec-7 экспрессируется на поверхности дендритных клеток человека. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro* с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая составляет менее 150 пМ, по данным измерения с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , которая на по меньшей мере 50% ниже, чем у антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; или на по меньшей мере 10% ниже, чем у антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

NO: 50, по данным измерения с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления уровни Siglec-7 на клеточной поверхности снижены до по меньшей мере 20%. В некоторых вариантах осуществления антитело в по меньшей мере 4,2 раза более активно, чем антитело к Siglec-7, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; или в по меньшей мере 1,4 раза более активно, чем антитело к Siglec-7, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, по данным измерения с помощью проточной цитометрии.

[0031] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию конкурирует с антителом, содержащим переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи из антитела, выбранного из группы, состоящей из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2 и любой их комбинации, в отношении связывания с Siglec-7.

[0032] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию связывает по существу тот же эпитоп Siglec-7, что и антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи из антитела, выбранного из группы, состоящей из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, и S7AB-H8.45.2.

[0033] В другом аспекте настоящее описание относится к выделенным нуклеиновым кислотам, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из антител, описанных в данном документе.

[0034] В другом аспекте настоящее описание относится к векторам, содержащим любую из нуклеиновых кислот, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вектор экспрессии и/или вектор для дисплея.

[0035] В другом аспекте настоящее описание относится к выделенным клеткам-хозяевам, содержащим любую из нуклеиновых кислот или векторов, описанных в данном документе.

[0036] В другом аспекте настоящее описание относится к способу получения антитела, которое связывается с Siglec-7, включающему культивирование любой из клеток-хозяев, описанных в данном документе, таким образом, чтобы продуцировалось антитело. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выделение антитела, продуцируемого клеткой.

[0037] В другом аспекте настоящее описание относится к антителу, продуцируемому любым из описанных в данном документе способов.

[0038] В другом аспекте настоящее описание относится к фармацевтическим композициям, содержащим любое из описанных в данном документе антител и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления настоящее описание относится к применению любого из описанных в данном документе антител для приготовления лекарственного препарата.

[0039] В другом аспекте настоящее описание относится к способу предотвращения, снижения риска появления или лечения заболевания, расстройства или повреждения, выбранного из группы, состоящей из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, таупатии, инфекции и злокачественного новообразования, включающему введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества любого из описанных в данном документе антител. В некоторых вариантах осуществления заболевание, расстройство или повреждение представляет собой злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечно-клеточного рака, рака лоханки почки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) и множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления настоящее описание относится к применению любого из описанных в данном документе антител для приготовления лекарственного препарата, полезного для предотвращения, снижения риска появления или лечения заболевания, расстройства или повреждения, выбранного из группы, состоящей из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, таупатии, инфекции и злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления заболевание, расстройство или повреждение представляет собой злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечно-клеточного рака, рака лоханки почки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) и множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование экспрессирует повышенные или высокие уровни лиганда Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления лиганд Siglec-7 представляет собой один или более из альфа-2,3-связанной сialовой кислоты и альфа-2,6-связанной сialовой кислоты, дисialogалактозилглобозида, дисиалил лактотетраозилцерамида и/или дисиалил GalNAc лактотетраозилцерамида. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование имеет повышенные или высокие уровни инфильтрирующих опухоль NK-клеток.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0040] На Фиг. 1 представлены результаты анализа методом проточной цитометрии, в котором измеряли связывание гуманизированных антител Siglec-7 с первичными дендритными клетками, происходящими из моноцитов человека.

[0041] На Фиг. 2 представлены результаты проточной цитометрии, в которой измеряли связывание гуманизированных антител Siglec-7 с созревшей аффинностью с первичными дендритными клетками, происходящими из моноцитов человека.

[0042] На Фиг.3 представлены результаты анализа методом проточной цитометрии, в котором измеряли связывание уровней Siglec-7 на поверхности первичных дендритных клеток человека после обработки антителами Siglec-7 с созревшей аффинностью.

[0043] На Фиг. 4 представлены результаты анализа методом проточной цитометрии, в котором измеряли уровни Siglec-7 на поверхности первичных дендритных клеток человека после обработки различными концентрациями антител к Siglec-7, содержащих различные Fc-области.

[0044] На Фиг. 5A представлены результаты проточной цитометрии, в которой измеряли уровни Siglec-7 человека на поверхности миелоидных клеток у мышей, трансгенных по Siglec-7 человека, которым вводили антитела к Siglec-7. На Фиг. 5B представлены результаты проточной цитометрии, в которой измеряли уровни Siglec-7 человека на поверхности естественных клеток-киллеров (NK) у мышей, трансгенных по Siglec-7 человека, которым вводили антитела к Siglec-7.

[0045] На Фиг. 6 показаны результаты проточной цитометрии, в которой измеряли уровни Siglec-7 человека на поверхности циркулирующих CD11b⁺Gr1⁺ клеток у мышей, трансгенных по Siglec-7 человека, которым вводили антитела к Siglec-7.

[0046] На Фиг.7 представлены результаты анализа для измерения активности АЗКЦ антител к Siglec-7.

[0047] На Фиг. 8 представлены результаты анализа КЗЦ в присутствии антител к Siglec-7.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Общие методики

[0048] Методики и способы, описанные или упомянутые в данном документе, в целом хорошо понятны и обычно используются специалистами в данной области техники с использованием традиционных методологий, таких как, например, широко используемые методологии, описанные в Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d 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); и *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

Определения

[0049] Используемый в данном документе термин «*предотвращение*» включает обеспечение профилактики в отношении возникновения или рецидива конкретного заболевания, расстройства или патологического состояния у индивидуума. Человек может быть предрасположен к определенному заболеванию, расстройству или патологическому состоянию, быть восприимчивым к нему или иметь риск развития такого заболевания, расстройства или патологического состояния, но у него еще не диагностировано заболевание, расстройство или патологическое состояние.

[0050] В данном контексте индивидуум, «*подверженный риску*» развития определенного заболевания, расстройства или патологического состояния, может иметь или не иметь выявляемое заболевание или симптомы заболевания, а также может проявлять или не проявлять выявляемое заболевание или симптомы заболевания до применения способов лечения, описанных в данном документе. «Подверженный риску» означает, что индивидуум имеет один или более факторов риска, которые являются измеряемыми параметрами, которые коррелируют с развитием конкретного заболевания, расстройства или патологического состояния, как известно в данной области техники. Человек, имеющий один или более из этих факторов риска, имеет более высокую вероятность развития конкретного заболевания, расстройства или патологического состояния, чем человек без одного или более из этих факторов риска.

[0051] Используемый в данном документе термин «*лечение*» относится к клиническому вмешательству, предназначенному для изменения естественного течения заболевания у индивидуума, подвергаемого лечению, в процессе клинического проявления патологии. Желательные эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования, улучшение или смягчение патологического состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза конкретного заболевания, расстройства или патологического состояния. Индивидуума успешно «лечат», например, если ослаблены или устранены один или более симптомов, связанных с конкретным заболеванием, расстройством или патологическим состоянием.

[0052] «*Эффективное количество*» относится к по меньшей мере количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата. Эффективное количество можно вводить за одно или более введений. Эффективное количество согласно данному документу может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса индивидуума, а также способность лечения вызывать желаемый ответ у индивидуума. Эффективным количеством также является такое количество, при котором любые токсические или вредные эффекты лечения перевешиваются терапевтически полезными эффектами. Для профилактического применения полезные или желаемые результаты включают такие результаты, как устранение или снижение риска, уменьшение степени тяжести или задержка начала заболевания, включая биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы заболевания, его осложнения и промежуточные патологические фенотипы, проявляющиеся во время развития заболевания.

Для терапевтического применения полезные или желаемые результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение одного или более симптомов, вызванных заболеванием, повышение качества жизни людей, страдающих этим заболеванием, уменьшение дозы других лекарственных препаратов, необходимых для лечения заболевания, усиление эффекта другого лекарственного препарата, такого как таргетирование, замедление прогрессирования заболевания и/или продление выживаемости. Эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для осуществления профилактического или терапевтического лечения прямо или косвенно. Как понятно в клиническом контексте, эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции может быть достигнуто или не достигнуто в комбинации с другим лекарственным средством, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, «эффективное количество» можно рассматривать в контексте введения одного или более терапевтических агентов, при этом считается, что отдельный агент применяется в эффективном количестве, если в сочетании с одним или более другими агентами может быть обеспечен или обеспечивается необходимый результат.

[0053] Как используется в данном документе, введение «в комбинации» с другим соединением или композицией включает одновременное введение и/или введение в разное время. Совместное введение также включает введение в виде совместного состава или введение в виде отдельных композиций, в том числе с разными частотами или интервалами введения доз и с использованием одного и того же пути введения или разных путей введения.

[0054] «Индивидуум» в целях лечения, профилактики или снижения риска относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных зоопарка, спортивных или домашних животных, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и тому подобное. Предпочтительно, индивидуум представляет собой человека.

[0055] Термин «иммуноглобулин» (Ig) используется в данном документе взаимозаменяемо с термином «антитело». Термин «антитело» в данном документе используется в самом широком смысле и, в частности, охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные по меньшей мере из двух интактных антител, и фрагменты антител, если они проявляют желаемую биологическую активность.

[0056] Основная 4-цепочечная единица антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Спаривание V_H и V_L вместе образует единый антигенсвязывающий сайт. Информацию по структуре и свойствам различных классов антител, см., например., *Basic and Clinical Immunology*, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, стр. 71 и глава 6.

[0057] L-цепь от любых вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух четко различающихся типов, называемых каппа («κ») и лямбда («λ»), на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (CH) иммуноглобулины можно отнести к разным классам или изотипам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, тяжелые цепи которых обозначены альфа («α»), дельта («δ»), эпсилон («ε»), гамма («γ») и мю («μ»), соответственно. Классы γ и α дополнительно делятся на подклассы (изотипы) на основе относительно незначительных различий в последовательности и функции CH, например, у человека экспрессируются следующие подклассы: IgG1,

IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны и в целом описаны, например, в Abbas *et al.*, *Cellular and Molecular Immunology*, 4th ed. (W.B. Saunders Co., 2000).

[0058] «Нативные антитела», как правило, представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины массой около 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью одной ковалентной дисульфидной связью, в то время как количество дисульфидных связей варьируется среди тяжелых цепей разных изотипов иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепь также содержит расположенные на равном расстоянии друг от друга внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая тяжелая цепь имеет на одном конце переменный домен (V_H), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь имеет переменный домен на одном конце (V_L) и константный домен на другом конце; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а переменный домен легкой цепи выровнен с переменным доменом тяжелой цепи. Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют область контакта между переменными доменами легкой цепи и тяжелой цепи.

[0059] «Выделенное» антитело, такое как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, представляет собой антитело, которое было идентифицировано, отделено и/или выделено из компонента среды его продукции (например, естественным или рекомбинантным путем). Предпочтительно, чтобы выделенный полипептид не ассоциировался со всеми другими загрязняющими компонентами из среды их продукции. Загрязняющие компоненты из среды их продукции, например, полученные из рекомбинантно трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые, как правило, мешают исследованиям, диагностике или терапевтическому применению антитела, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления полипептид будет очищен: (1) до более 95% по массе антитела, как определено, например, методом Лоури, и в некоторых вариантах осуществления до более 99% по массе; (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, используя секвенатор с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза в невозстанавливающих или восстанавливающих условиях с использованием Кумасси синего или, предпочтительно, красителя на основе серебра. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных Т-клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела будет отсутствовать. В то же время, выделенный полипептид или антитело как правило, получают с помощью по меньшей мере одной стадии очистки.

[0060] «Переменная область» или «переменный домен» антитела, такого как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, относится к N-концевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи можно обозначать как « V_H » и « V_L », соответственно. Эти домены в целом являются наиболее переменными частями антитела (по сравнению с другими антителами того же класса) и содержат сайты связывания антигена.

[0061] Термин «переменный» относится к тому факту, что определенные сегменты переменных доменов сильно различаются по последовательности среди антител, таких как антитела к Siglec-7 по настоящему описанию. V-домен опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. В то же время, переменность неравномерно распределена на протяжении переменных доменов. Вместо этого она сосредоточена в трех сегментах, называемых

гипервариабельными областями (HVR), как в переменных доменах легкой цепи, так и в переменных доменах тяжелой цепи. Более консервативные фрагменты переменных доменов называются каркасными областями (FR). Каждый из переменных доменов нативных тяжелой и легкой цепей состоит из четырех областей FR, в значительной степени принимающих конфигурацию бета-листа, соединенных тремя HVR, которые образуют петли, соединяющие и в некоторых случаях образующие часть структуры бета-листа. HVR в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости с помощью областей FR и вместе с HVR из другой цепи, участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat *et al.*, *Sequences of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, но проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной токсичности.

[0062] Используемый в данном документе термин «моноклональное антитело» относится к антителу, такому как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела высокоспецифичны, поскольку направлены против одного или более антигенных сайтов. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело по настоящему описанию может представлять собой биспецифическое антитело. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые, как правило, включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на одном или более антигенных сайтах. Определение «моноклональное» указывает на характер антитела, полученного из, по существу, однородной популяции антител, и не должно быть истолковано как требующее получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, которые будут использоваться в соответствии с настоящим описанием, могут быть получены с помощью различных способов, включая, например, технологии фагового дисплея (см., например, Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 101(34):12467-472 (2004); и Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004), гибридный метод (например, Kohler and Milstein, *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo *et al.*, *Hybridoma*, 14 (3):253-260 (1995), Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1988); Hammerling *et al.*, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), способы рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567), и технологии получения человеческих или человекоподобных антител у животных, которые содержат часть локусов или все локусы человеческого иммуноглобулина или гены, кодирующие последовательности человеческого иммуноглобулина (см., например, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature* 362:255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, *Year in Immunol.* 7:33 (1993); патенты США №№ 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; и 5661016; Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature* 368:856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-813 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnol.* 14:845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14:826 (1996); и Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995).

[0063] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» или «полное антитело» используются взаимозаменяемо для обозначения антитела, такого как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, в его по существу интактной форме, в отличие от фрагмента антитела. В частности, полные антитела включают антитела с тяжелыми и легкими цепями, включая Fc-область. Константные домены могут представлять собой константные домены с нативной последовательностью (например, константные домены человеческой с нативной последовательностью) или их варианты аминокислотной последовательности. В некоторых случаях интактное антитело может выполнять одну или более эффекторных функций.

[0064] «Фрагменты антител» содержит часть интактного антитела, предпочтительно антигенсвязывающую и/или переменную область интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела; линейные антитела (см. патент США 5641870, пример 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995)); молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[0065] При расщеплении папаином антител, таких как антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, образуются два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых фрагментами «Fab», и остаточный фрагмент «Fc», название которого отражает его способность к легкой кристаллизации. Fab-фрагмент состоит из целой L-цепи вместе с доменом переменной области H-цепи (V_H) и первым константным доменом одной тяжелой цепи (C_{H1}). Каждый фрагмент Fab является моновалентным по отношению к связыванию антигена, то есть он имеет единственный антигенсвязывающий сайт. Обработка антитела пепсином позволяет выделить одиночный большой фрагмент F(ab')₂, который приблизительно соответствует двум фрагментам Fab, и все еще способным к сшиванию антигена. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab тем, что имеют несколько дополнительных остатков на C-конце домена C_{H1}, включая один или более цистеинов из шарнирной области антитела. В настоящем документе Fab'-SH является обозначением для фрагмента Fab', в котором цистеиновые остатки(-ок) константных доменов несут свободную тиольную группу. Фрагменты F(ab')₂ антитела первоначально получали в виде пар фрагментов Fab', которые имеют шарнирные цистеины между ними. Известны также и другие способы химического связывания фрагментов антител.

[0066] Фрагмент Fc включает C-концевые части обеих H-цепей, удерживаемые вместе дисульфидами. Эффекторные функции антител определяются последовательностями в области Fc, области, которая также распознается Fc-рецепторами (FcR), обнаруженными на определенных типах клеток.

[0067] «Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания и связывания антигена. Этот фрагмент состоит из димера одного домена переменной области тяжелой цепи и одного домена переменной области легкой цепи, жестко связанных посредством нековалентных связей. При фолдинге этих двух доменов наружу выступают шесть гипервариабельных петель (по 3 петли на каждой H- и L-цепи), аминокислотные остатки которых участвуют в связывании антигена и придают антителу специфичность по отношению к связыванию антигена. В то же время даже один переменный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичные к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя с более низкой аффинностью, чем целый сайт связывания.

[0068] «Одноцепочечные Fv», также имеющие аббревиатуру «sFv» или «scFv», представляют собой фрагменты антител, которые содержат домены антител V_H и V_L, связанные в одну полипептидную цепь.

Предпочтительно, полипептид sFv также содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, позволяющий sFv образовывать структуру, необходимую для связывания с антигеном. Обзор по sFv см. у Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

[0069] «Функциональные фрагменты» антител, такие как антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, содержат часть интактного антитела, как правило, включающую антигенсвязывающую или вариабельную область интактного антитела или F-область антитела, которая сохраняет или имеет модифицированную способность связывания FcR. Примеры фрагментов антител включают линейные антитела, молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[0070] Термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антител, полученным путем конструирования фрагментов sFv (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (около 5-10 остатков) между доменами V_H и V_L, благодаря чему достигается межцепочечное, а не внутрицепочечное сопряжение V-доменов, приводящее к образованию бивалентного фрагмента, т.е. фрагмента, имеющего два антигенсвязывающих сайта. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры двух «кроссоверных» фрагментов sFv, в которых домены V_H и V_L двух антител присутствуют на разных полипептидных цепях. Более подробно диатела описаны, например, в, EP 404097; WO 93/11161; Hollinger *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:6444-48 (1993).

[0071] Используемый в данном документе термин «химерное антитело» относится к антителу (иммуноглобулину), такому как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от определенного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, в то время как остальная часть цепи(-ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность (патент США № 4816567; Morrison *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 81:6851-55 (1984)). Представляющие интерес химерные антитела включают антитела PRIMATIZED®, в которых антигенсвязывающая область антитела происходит из антитела, получаемого, например, при помощи иммунизации макака представляющим интерес антигеном. Используемый в данном документе термин «гуманизированное антитело» означает подмножество «химерных антител».

[0072] «Гуманизированные» формы нечеловеческих (например, мышинных) антител, такие как антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. В одном варианте гуманизированное антитело представляет собой человеческий иммуноглобулин (антитело-реципиент), в котором остатки из HVR реципиента заменены остатками из HVR нечеловеческого вида (антитело-донор), такого как мышь, крыса, кролик или отличный от человека примат, имеющий желаемую специфичность, аффинность и/или активность. В некоторых случаях, остатки FR человеческого иммуноглобулина заменены соответствующими нечеловеческими остатками. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, отсутствующие в антителе-реципиенте или в антителе-доноре. Эти модификации могут быть сделаны для дальнейшего улучшения характеристик антител, таких как аффинность связывания. В общем, гуманизированное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного, а обычно двух

вариабельных доменов, в которых все или практически все гипервариабельные петли соответствуют таковым последовательности иммуноглобулина нечеловеческого происхождения, и все или практически все области FR соответствуют таким областям последовательности человеческого иммуноглобулина, хотя области FR могут содержать одну или более отдельных замен остатков FR, которые улучшают характеристики антитела, такие как аффинность связывания, изомеризация, иммуногенность и т.п. Число этих аминокислотных замен в FR обычно составляет не более 6 в Н-цепи, а в L-цепи не более 3. Гуманизированное антитело необязательно будет также содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. Для получения дополнительной информации, см., например, Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); и Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). См. также, например, Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994); и патенты США №№ 6982321 и 7087409.

[0073] «Антитело человека» представляет собой антитело, которое имеет аминокислотную последовательность, соответствующую таковой у антитела, такого как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, продуцируемого человеком и/или полученного с использованием любой из методик для получения антител человека, как описано в данном документе. Из этого определения антитела человека, в частности, исключено гуманизированное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки нечеловеческого происхождения. Антитела человека можно получать различными способами, известными в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). Также для получения моноклональных антител человека доступны способы, описанные в Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991). См. также van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001). Антитела человека могут быть получены путем введения антигена трансгенному животному, которое было модифицировано для выработки таких антител в ответ на антигенную стимуляцию, но чьи эндогенные локусы были инактивированы, например, иммунизированным ксеномышам (см., например, патенты США №№ 6075181 и 6150584 относительно технологии XENOMOUSE™). См. также, например, Li *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) относительно антител человека, полученных с помощью технологии человеческой В-клеточной гибридомы.

[0074] Термин «гипервариабельная область», «HVR» или «HV» при использовании в данном документе относится к областям вариабельного домена антитела, таким как область антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, которые являются гипервариабельными по последовательности и/или которые образуют структурно определенные петли. В целом, антитела содержат шесть HVR; три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). В нативных антителах H3 и L3 демонстрируют наибольшее разнообразие из шести HVR, и, как полагают, в частности, H3 играет уникальную роль в придании высокой специфичности антителам. См., например, Xu *et al.*, *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson и Wu в *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)). Действительно, встречающиеся в природе антитела верблюдовых, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными без легкой цепи. См., например, Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993) и Sheriff *et al.*, *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

[0075] Применяют большое число вариантов разграничения HVR, которые включены в данный документ. В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой определяющие

комплементарность области (CDR) по Kabat, в основе которых лежит вариабельность последовательностей и которые являются наиболее часто используемыми (Kabat *et al.*, выше). В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой CDR по Chothia. Нумерация Chothia вместо этого указывает на расположение структурных петель (Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой CDR по AbM. HVR по AbM представляют собой компромиссный вариант между CDR по Kabat, и структурными петлями по Chothia, и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой CDR по «Contact». HVR по «Contact» определяют в анализе доступных кристаллических структур комплексов. Остатки из каждой из этих HVR приведены ниже.

Петля	Kabat	AbM	Chothia	Contact
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (нумерация по Kabat)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (нумерация по Chothia)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0076] HVR могут включать «расширенные HVR» следующим образом: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2), и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 (H1), 50-65 или 49-65 (предпочтительный вариант) (H2) и 93-102, 94-102 или 95-102 (H3) в VH. Остатки вариабельного домена пронумерованы согласно EU или Kabat *et al.*, выше, для каждого из этих определений расширенного HVR.

[0077] Остатки «каркасной области» или «FR» представляют собой остатки вариабельного домена, отличные от остатков HVR, как определено в данном документе.

[0078] Фраза «нумерация остатков вариабельных доменов, как в Kabat» или «нумерация аминокислотных положений, как в Kabat», и их варианты относятся к системе нумерации, используемой для вариабельных доменов тяжелой цепи или вариабельных доменов легкой цепи при составлении антител в Kabat *et al.*, выше. При использовании этой системы нумерации, фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньше или больше аминокислот, что соответствует укорочению или вставкам в FR или HVR вариабельного домена. Например, вариабельный домен тяжелой цепи может содержать вставку одной аминокислоты (остаток 52a в соответствии с Kabat) после остатка 52 H2 и вставленные остатки (например, остатки 82a, 82b, 82c и т. д. в соответствии с Kabat) после остатка 82 FR тяжелой цепи. Нумерация остатков по Kabat для данного антитела может быть определена путем выравнивания областей гомологии последовательности антитела со «стандартной» пронумерованной по Kabat последовательностью.

[0079] Система нумерации Kabat в общем случае используется для обозначения остатка в вариабельном домене (приблизительно остатки 1-107 легкой цепи и остатки 1-113 тяжелой цепи) (например, Kabat *et al.* Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). «Система нумерации EU» или «индекс EU» в общем случае используется для обозначения остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс EU, описанный в Kabat *et al.*, выше). «Индекс EU в соответствии с Kabat» относится к нумерации остатков EU

человеческого антитела IgG1. Если не указано иначе, ссылки на номера остатков в переменном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации по Кабату. Если не указано иное, то в данном документе ссылки на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков согласно системе нумерации EU (например, см. публикации патента США № 2010-280227).

[0080] «Акцепторная каркасная область человека», как используется в данном документе, представляет собой каркасную область, содержащую аминокислотную последовательность каркасной области VL или VH, полученную из каркасной области иммуноглобулина человека или консенсусной каркасной области человека. Акцепторная каркасная область человека, «полученная из» каркасной области иммуноглобулина человека или консенсусной каркасной области человека, может содержать такую же аминокислотную последовательность, или она может содержать ранее существовавшие изменения аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления количество ранее существовавших аминокислотных замен 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. Если в VH присутствуют ранее существовавшие аминокислотные изменения, предпочтительно, эти изменения осуществляют только в трех, двух или одном из положений 71H, 73H и 78H; например, аминокислотные остатки в этих положениях могут представлять собой 71A, 73T и/или 78A. В одном варианте осуществления последовательность акцепторной человеческой каркасной области VL идентична последовательности каркасной области VL иммуноглобулина человека или последовательности консенсусной каркасной области человека.

[0081] «Консенсусная каркасная область человека» представляет собой каркасную область, которая содержит наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки при выборе последовательностей каркасной области VL или VH иммуноглобулина человека. В целом, последовательности VL или VH иммуноглобулина человека выбраны из последовательностей подгруппы переменных доменов. В целом, подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу, как в Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Примеры включают для VL, подгруппа может представлять собой подгруппу каппа I, каппа II, каппа III или каппа IV, как в Kabat *et al.*, *выше*. Кроме того, для VH подгруппа может представлять собой подгруппу I, подгруппу II или подгруппу III, как в Kabat *et al.*, *выше*.

[0082] «Аминокислотная модификация» в определенном положении, например, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, относится к замене или делеции указанного остатка или вставке по меньшей мере одного аминокислотного остатка, смежного с указанным остатком. Вставка «рядом» с указанным остатком означает вставку в пределах одного-двух его остатков. Вставка может быть N-концевой или C-концевой по отношению к указанному остатку. В данном документе предпочтительной модификацией аминокислоты является замена.

[0083] Антитело с «созревшей аффинностью», такое как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, представляет собой антитело с одним или более изменениями в одной или более его HVR, которые приводят к повышению аффинности антитела к антигену по сравнению с исходным антителом, не имеющим этих изменений(-я). В одном варианте осуществления антитело с созревшей аффинностью имеет наномолярную или даже пикомолярную аффинность к целевому антигену. Антитела с созревшей аффинностью получают способами, известными в данной области техники. Например, в Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) описано созревание аффинности путем перестановки доменов VH и VL. Случайный мутагенез остатков HVR и/или каркаса описывается, например, в Barbas *et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813

(1994); Schier *et al. Gene* 169:147-155 (1995); Yelton *et al. J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson *et al., J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); и Hawkins *et al, J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).

[0084] Используемый в данном документе термин «*специфически распознает*» или «*специфически связывает*» относится к измеряемым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как притяжение или связывание между мишенью и антителом, таким как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое определяет присутствие мишени в присутствии гетерогенной популяции молекул, включая биологические молекулы. Например, антитело, такое как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое специфически или предпочтительно связывается с мишенью или эпитопом, представляет собой антитело, которое связывает эту мишень или эпитоп с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем он связывается с другими мишенями или другими эпитопами мишени. Из этого определения также понятно, что, например, антитело (или фрагмент), 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. Антитело, которое специфически связывается с мишенью, может иметь константу ассоциации по меньшей мере около 10^3 M^{-1} или 10^4 M^{-1} , иногда около 10^5 M^{-1} или 10^6 M^{-1} , в других случаях около 10^6 M^{-1} или 10^7 M^{-1} , от около 10^8 M^{-1} до 10^9 M^{-1} , или от около 10^{10} M^{-1} до 10^{11} M^{-1} или выше. Для выбора антител, специфически иммунореактивных по отношению к конкретному белку, можно использовать различные форматы иммуноанализа. Например, твердофазные иммуноферментные анализы ИФА, как правило, используется для выбора моноклональных антител, специфически иммунореактивных по отношению к белку. См., например, Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York, для описания форматов иммуноанализа и условий, которые могут быть использованы для определения специфической иммунореактивности.

[0085] Используемый в данном документе термин «*взаимодействие*» между белком Siglec-7 и вторым белком охватывает, без ограничения, белок-белковое взаимодействие, физическое взаимодействие, химическое взаимодействие, связывание, ковалентное связывание и ионное связывание. В данном контексте антитело «ингибирует взаимодействие» между двумя белками, если антитело нарушает, уменьшает или полностью устраняет взаимодействие между двумя белками. Антитело в соответствии с настоящим описанием или его фрагмент «ингибирует взаимодействие» между двумя белками, когда антитело или его фрагмент связывается с одним из двух белков.

[0086] «*Агонистическое*» антитело или «*активирующее*» антитело представляет собой антитело, такое как агонистическое антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое индуцирует (например, увеличивает) одну или более активностей или функций антигена после того, как антитело связывает антиген.

[0087] «*Блокирующее*» антитело, «*антагонистическое*» антитело или «*ингибирующее*» антитело представляет собой антитело, такое как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое ингибирует или снижает (например, снижает) связывание антигена с одним или более лигандами после того, как антитело связывает антиген, и/или которое ингибирует или снижает (например, уменьшает) одну или более активностей или функций антигена после того, как антитело связывает антиген. В некоторых вариантах осуществления блокирующие антитела, антагонистические антитела или ингибирующие антитела по

существу или полностью ингибируют связывание антигена с одним или более лигандами и/или одну или более активностей или функций антигена.

[0088] «Эффекторные функции» антитела относятся к той биологической активности, которая относится к Fc-области (например, нативной последовательности Fc-области или варианту аминокислотной последовательности Fc-области) антитела, и варьируются в зависимости от изотипа антитела.

[0089] Термин «Fc-область» в данном документе используется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-областей. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулинов могут варьироваться, Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяют как участок от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до его C-конца. C-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU или Kabat) Fc-области может быть удален, например, во время получения или очистки антитела, или путем рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител, в которых удалены все остатки K447, популяции антител, в которых не удалены остатки K447, и популяции антител, содержащие смесь из антител с остатком K447 и без него. Подходящие Fc-области с нативной последовательностью для применения в антителах по настоящему описанию включают области из человеческих IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[0090] «Fc-область с нативной последовательностью» содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности Fc-области, встречающейся в природе. Нативная последовательность Fc-областей человека включают нативную последовательность Fc-области IgG1 человека (аллотипы не A и A); 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.

[0091] «Вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от последовательности Fc-области с нативной последовательностью на основании по меньшей мере одной модификации аминокислоты, предпочтительно одной или более аминокислотных замен(-ы). Предпочтительно вариантная Fc-область имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с Fc-областью с нативной последовательностью 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 Fc-области с нативной последовательностью или в Fc-области исходного полипептида. Вариантная Fc-область в данном документе предпочтительно будет иметь по меньшей мере около 80% гомологии с Fc-областью с нативной последовательностью и/или с Fc-областью исходного полипептида, и наиболее предпочтительно по меньшей мере около 90% гомологии с ними, более предпочтительно по меньшей мере около 95 % гомологии с ними.

[0092] Термины «Fc-рецептор» или «FcR» описывают рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. Предпочтительный FcR представляет собой нативную последовательность человеческого FcR. Более того, предпочтительным FcR является тот, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы этих рецепторов, рецепторы FcγRII включают FcγRIIA («активирующий рецептор») и FcγRIIB («ингибирующий рецептор»), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, отличающиеся преимущественно их цитоплазматическими доменами. Активирующий

рецептор FcγRIIA содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив («ITAM») в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив («ITIM») в своем цитоплазматическом домене (см., например, M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). Обзор FcR приведен в публикациях Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel *et al.*, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); и de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995). Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, включены в термин «FcR» в данном документе. FcR также могут увеличивать время полужизни антител в сыворотке.

[0093] Связывание с FcRn *in vivo* и время полужизни в сыворотке полипептидов, связывающих с высокой аффинностью человеческий FcRn, можно проанализировать, например, у трансгенных мышей, или в трансфицированных человеческих линиях клеток, экспрессирующих FcRn человека, или у приматов, которым вводят полипептиды с вариантной Fc-областью. В WO 2004/42072 (Presta) описаны варианты антител с улучшенным или ослабленным связыванием с FcR. См. также, например, Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001).

[0094] Используемые в данном документе термины «процент (%) идентичности аминокислотных последовательностей» и «гомология» в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела относятся к проценту 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 не считая любые консервативные замены частью идентичности 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™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить нужные параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, известные в данной области техники, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[0095] «Выделенная» клетка представляет собой молекулу или клетку, которые идентифицированы и отделены, по меньшей мере, от одной контаминирующей клетки, с которой она, как правило, связана в среде, в которой она была произведена. В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка не связана со всеми компонентами, связанными со средой, в которой она культивируется. Выделенная клетка имеет форму, отличную от той формы или состояния, в которых она находится в природе. Выделенные клетки отличаются от клеток, естественным образом присутствующих в тканях, органах или индивидуумах. В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка представляет собой клетку-хозяин по настоящему описанию.

[0096] «Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, такое как антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицирована и отделена по меньшей мере от одной загрязняющей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно связана в среде, в которой она была образована. Предпочтительно, выделенная нуклеиновая кислота не имеет связей со всеми компонентами, связанными со средой, в которой она культивируется. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и антитела, по настоящему описанию находятся в форме, отличной от той формы или условий, в которых они встречаются

в природе. Поэтому выделенные молекулы нуклеиновой кислоты отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и антитела по настоящему описанию, присутствующие в природе в клетках.

[0097] Используемый в данном документе термин «*вектор*» предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной переносить другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Одним тип вектора представляет собой «плазмиду», которая относится к кольцевой двухцепочечной ДНК, с которой могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другой тип вектора представляет собой фаговый вектор. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, отличающееся тем, что дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Некоторые векторы способны к независимой репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную природу репликации и эпизомные векторы млекопитающего). Другие векторы (например, неэпизомальные векторы млекопитающих) могут интегрироваться в геном клетки-хозяина после внесения в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом хозяина. Более того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в данном документе «рекомбинантными векторами экспрессии» или просто «векторами экспрессии». В целом, векторы экспрессии, используемые в технологиях рекомбинантных ДНК, часто имеют форму плазмид. В данном описании «плазида» и «вектор» могут использоваться взаимозаменяемо, поскольку плазида является наиболее часто используемой формой вектора.

[0098] Взаимозаменяемо употребляемые в данном документе термины «*полинуклеотид*» или «*нуклеиновая кислота*» относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть включен в полимер ДНК- или РНК-полимеразой или с помощью синтетической реакции. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. Если присутствует, модификация нуклеотидной структуры может быть внесена до или после сборки полимера. Последовательность нуклеотидов может прерываться ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид может содержать модификацию(-и), произведенные после синтеза, такие как конъюгация с меткой. Другие типы модификаций включают, например, «кэп», замену одного или более встречающихся в природе нуклеотидов аналогом, межнуклеотидные модификации, такие как, например, модификации с незаряженными связями (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфоамидаты, карбаматы и т. д.) и с заряженными связями (например, фосфоротиоаты, фосфородитиоаты и т. д.), модификации, содержащие боковые части, такие как, например, белки (например, нуклеазы, токсины, антитела, сигнальные пептиды, рly-L-лизин и т. д.), модификации, содержащие интеркаляторы (например, акридин, псорален и т. д.), модификации, содержащие хелаторы (например, металлы, радиоактивные металлы, бор, окислительные металлы и т. д.), модификации, содержащие алкилирующие агенты, модификации с модифицированными связями (например, альфа-аномерные нуклеиновые кислоты и др.), а также немодифицированные формы полинуклеотида(-ов). Кроме того, любые гидроксильные группы, как правило, присутствующие в сахарах, могут быть заменены, например, фосфонатными группами, фосфатными группами, защищены стандартными защитными группами или активированы для получения дополнительных связей с дополнительными нуклеотидами, или могут быть конъюгированы с твердыми или полутвердыми подложками. 5'- и 3'-концевые ОН могут быть фосфорилированы или замещены аминами или фрагментами органической кэпирующей группы, содержащей от 1 до 20 атомов углерода. Другие гидроксилы также

могут быть преобразованы в стандартные защитные группы. Полинуклеотиды могут также содержать аналогичные формы сахаров рибозы или дезоксирибозы, которые, как правило, известны в данной области техники, включая, например, 2'-О-метил-, 2'-О-аллил-, 2'-фтор- или 2'-азидо-рибозу, карбоциклические аналоги сахаров, α -аномерные сахара, эпимерные сахара, такие как арабиноза, ксилозы или ликсозы, пираноз, фураноз, седогептулозы, ациклические аналоги и основные аналоги нуклеозидов, такие как метилрибозид. Одна или более фосфодиэфирных связей могут быть заменены альтернативными линкерными группами. Эти альтернативные линкерные группы включают, но не ограничиваются ими, варианты осуществления, в которых фосфат заменен на P(O)S («тиоат»), P(S)S («дитиоат»), (O)NR₂ («амидат»), P(O)R, P(O)OR', CO или CH₂ («формацеталь»), в которых каждый R или R' независимо представляет собой H или замещенный или незамещенный алкил (1-20 C), необязательно содержащий простую эфирную связь (-O-), арил, алкенил, циклоалкил, циклоалкенил или аралдил. Не все связи в полинуклеотиде должны быть идентичными. Предыдущее описание применимо ко всем полинуклеотидам, упомянутым в данном документе, включая РНК и ДНК.

[0099] «Клетка-хозяин» включает отдельную клетку или культуру клеток, которые могут быть или были реципиентом вектора(-ов) для включения полинуклеотидных вставок. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и потомство необязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или по комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(-ами), представленным в настоящем описании.

[00100] Используемый в данном документе термин «носители» включает фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, которое подвергается их воздействию, в применяемых дозировках и концентрациях. Часто физиологически приемлемым носителем является водный pH-буференный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфатный, цитратный, и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные (менее около 10 аминокислотных остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как ТВИН™, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и ПЛЮРОНИКИ™.

[00101] Термин «около», используемый в данном документе, относится к обычному диапазону погрешностей для соответствующего значения и хорошо известный специалисту в данной области техники. В данном документе применение «около» по отношению к величине или параметру включает (и описывает) варианты осуществления, которые относятся непосредственно к этой величине или параметру по существу.

[00102] Использование в данном описании и в прилагаемой формуле изобретения форм единственного числа включает ссылку на множественное число, если в контексте явно не указано иное. Например, ссылка на «антитело» означает одно или более антител, например, молярные количества, и включает их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее.

[092] Понятно, что аспект и варианты осуществления настоящего описания, описанные в данном документе, включают в себя аспекты и варианты «содержащий», «состоящий» и «состоящий по существу из».

Обзор

[00103] Настоящее описание частично относится к антителам к Siglec-7, которые демонстрируют одну или более усиленных и/или улучшенных функциональных характеристик по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62, или по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 50. Неограничивающие усиленные и/или улучшенные функциональные свойства включают, например, антитела, способные связывать Siglec-7 с более высокой аффинностью, снижая уровни Siglec-7 на клеточной поверхности, уменьшая полумаксимальную эффективную концентрацию (EC_{50}) для снижения уровней Siglec-7 на клеточной поверхности, увеличивая максимальное снижение уровней Siglec-7 на клеточной поверхности, или любую их комбинацию. В настоящем документе также рассматриваются антитела к Siglec-7 с различными вариантами Fc, которые демонстрируют одну или более усиленных и/или улучшенных функциональных характеристик, включая снижение полумаксимальной эффективной концентрации (EC_{50}) для снижения уровней Siglec-7 на клеточной поверхности, и увеличение максимального снижения уровней Siglec-7 на клеточной поверхности.

[00104] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют более высокую активность в снижении уровней Siglec-7 на клеточной поверхности по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62 или по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 50.

[00105] Настоящее раскрытие также относится к способам получения и применения антител к Siglec-7, как описано в данном документе; фармацевтические композиции, содержащие такие антитела; нуклеиновые кислоты, кодирующие такие антитела; и клетки-хозяева, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие такие антитела.

[00106] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут иметь одну или более активностей, которые обусловлены, по меньшей мере частично, способностью антител снижать клеточную экспрессию (например, экспрессию на клеточной поверхности) Siglec-7 путем индукции деградации, негативной регуляции, расщепления, десенсибилизации рецептора и/или нацеливания на лизосомы в отношении Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 проявляют одно или более из следующих свойств: а. имеет константу диссоциации (K_D) для Siglec-7 человека, которая ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62; b. связываются с человеческими клетками, такими как первичные дендритные клетки человека; с. снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности (например, снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности

первичных дендритных клеток человека *in vitro*) с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62; d. имеет константу диссоциации (K_D) для Siglec-7 человека, которая может находиться в диапазоне от около 0,001 нМ до около 124 нМ, например, когда K_D определяется с помощью поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии; и/или e. снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности (например, снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности первичных дендритных клеток человека *in vitro*) с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая может варьироваться от около 33,2 пМ до около 25,4 нМ, например, когда EC_{50} определяют *in vitro* с помощью проточной цитометрии. Как описано в данном документе, полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) относится к концентрации, при которой антитело к Siglec-7 по настоящему описанию снижает клеточные уровни Siglec-7 на клетке или в клетке до половины от уровня необработанных клеток, или к концентрации, при которой антитело достигает полумаксимального связывания с Siglec-7 на клетке.

[00107] Преимущественно, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают экспрессию Siglec-7 на клеточной поверхности (например, в примерно 30,8 раз) более активно (например, с более низкой EC_{50}) по сравнению с контрольным антителом к Siglec-7 (например, контрольным антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62) (см., например, пример 3) . В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают экспрессию Siglec-7 на клеточной поверхности (например, в примерно 10,2 раз) более активно (например, с более низкой EC_{50}) по сравнению с контрольным антителом к Siglec-7 (например, контрольным антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 50) (см., например, пример 3) . Кроме того, преимущественно, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют более высокую аффинность (например, аффинность в примерно 1240 раз выше) к Siglec-7 (например, более низкое значение K_D , измеренное с помощью биослойной интерферометрии) по сравнению с контрольным антителом к Siglec-7 (например, контрольным антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62 (см., например, примеры 1 и 3). Удивительно, но более высокая аффинность к Siglec-7 не обязательно коррелирует с увеличением способности или активности в снижении экспрессии Siglec-7 на клеточной поверхности (см., например, примеры 2 и 5).

Белки Siglec-7

[00108] В одном аспекте в настоящем описании предложены антитела, такие как выделенные (например, моноклональные) антитела, которые взаимодействуют или иным образом связываются с областью, такой как эпитоп, в белке Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления антитела взаимодействуют или иным образом связываются с областью, такой как эпитоп, в белке Siglec-7 по настоящему описанию с улучшенной/усиленной кинетикой (например, по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления антитела взаимодействуют или иным образом связываются с областью,

такой как эпитоп, в белке Siglec-7 на клетках человека, таких как дендритные клетки, с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже, чем у указанного контрольного антитела (например, по сравнению антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с белком Siglec-7 и модулируют одну или более активностей Siglec-7 после связывания с белком Siglec-7, например, активность, связанную с экспрессией Siglec-7 на клетке. Белки Siglec-7 по настоящему описанию включают, без ограничения, белок Siglec-7 млекопитающих, белок Siglec-7 отличного от человека примата, и белок Siglec-7 человека.

[00109] Siglec-7 по-разному называют молекулой Siglec-7, Ig-подобным лектином 7, связывающим сиаловую кислоту, AIRM1, CD328, CDw328, D-Siglec, QA79, SIGLEC19P, SIGLECP2, p75, и p75/AIRM1.

[00110] Siglec-7 представляет собой иммуноглобулиноподобный рецептор, в первую очередь экспрессируемый на иммунных и гематопозитических клетках, включая, помимо прочего, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки, микроглиальные клетки, лимфоидные клетки, естественные клетки-киллеры и субпопуляции Т-клеток.

[00111] Аминокислотная последовательность Siglec-7 человека представлена ниже как SEQ ID NO: 63:

10	20	30	40 50
MLLLLLLPLL WGRERVEGQK SNRKDYSLTM QSSVTVQEGM CVHVRCFSFY			
60	70	80	90 100
PVDSQTDSDP VHGYWFRAGN DISWKAPVAT NNPAAVQEE TRDRFHLLGD			
110	120	130	140 150
PQTKNCTLSI RDARMSDAGR YFFRMEKGNI KWNKYDQLS VNVLTALTHR			
160	170	180	190 200
NILIPGTLES GCFQNLTCVS PWACEQGTPP MISWMGTSVS PLHPSTTRSS			
210	220	230	240 250
VLTLPQPQH HGTSLTQVT LPGAGVTTNR TIQLNVSYPQ QNLTVTVFQG			
260	270	280	290 300
EGTASTALGN SSSLSVLEGQ SLRLVCAVDS NPPARLSWTW RSLTLYPSQP			
310	320	330	340 350
SNPLVLELQV HLGDEGEFTC RAQNSLGSQH VSLNLSLQQE YTGKMRPVSG			
360	370	380	390 400
VLLGAVGGAG ATALVFLSFC VIFIVRSCR KKSARPAADV GDIGMKDANT			
410	420	430	440 450
IRGSASQGNL TESWADDNPR HHGLAAHSSG EEREIQYAPL SFHKGEQDL			
460			
SGQEATNNEY SEIKIPK			

[00112] В некоторых вариантах осуществления Siglec-7 представляет собой белок-предшественник, который содержит сигнальную последовательность. В некоторых вариантах осуществления Siglec-7 представляет собой зрелый белок. В некоторых вариантах осуществления зрелый белок Siglec-7 не

содержит сигнальную последовательность. В некоторых вариантах осуществления зрелый белок Siglec-7 экспрессируется на клетке. В некоторых вариантах осуществления зрелый белок Siglec-7 экспрессируется на клетке, такой как поверхность клетки, включая, без ограничения, дендритные клетки человека, макрофаги человека, моноциты человека, остеокласты человека, нейтрофилы человека, NK-клетки человека, Т-клетки человека, Т-хелперы человека, цитотоксические Т-клетки человека, гранулоциты человека и микроглию человека. Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут связывать любой из белков Siglec-7 по настоящему описанию, экспрессируемых на любой клетке, описанной в настоящем документе.

[00113] Белки Siglec-7 по настоящему описанию, такие как Siglec-7 человека, содержат несколько доменов, включая, помимо прочего, сигнальную последовательность, расположенную в аминокислотных остатках 1-18 SEQ ID NO: 63, внеклеточный иммуноглобулиноподобный домен вариабельного типа (IgV), расположенный на аминокислотных остатках 39-122 SEQ ID NO: 63, два Ig-подобных домена C2-типа, расположенных в аминокислотных остатках 150-233 и 240-336 SEQ ID NO: 63, трансмембранный домен, расположенный в аминокислотных остатках 354-376 SEQ ID NO: 63, ITIM-мотив 1, расположенный в аминокислотных остатках 435-440 SEQ ID NO: 63, и ITIM-мотив 2, расположенный в аминокислотных остатках 459-463 SEQ ID NO: 63. Как должно быть понятно специалисту в данной области техники, начальные и конечные остатки доменов по настоящему описанию могут варьироваться в зависимости от используемой программы компьютерного моделирования или метода, используемого для определения домена.

[00114] Некоторые аспекты настоящего описания относятся к антителам к Siglec-7, которые связываются с Siglec-7 человека или его гомологом, включая, без ограничения, белок Siglec-7 отличного от человека примата, белок Siglec-7 и ортологи Siglec-7 от других видов отличных от человека приматов. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с Siglec-7 человека или его гомологом с улучшенной/усиленной кинетикой связывания (например, по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62).

[00115] Соответственно, в контексте данного документа белок «Siglec-7» по настоящему описанию включает, без ограничения, белок Siglec-7 млекопитающего, белок Siglec-7 отличного от человека примата, белок Siglec-7 человека или белок Siglec-7 примата. Кроме того, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут связываться с эпитопом в белке Siglec-7 человека или белке Siglec-7 примата. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут специфически связываться с Siglec-7 человека.

[00116] В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию могут связывать Siglec-7 зависимым от pH образом. В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию могут связываться с Siglec-7 при нейтральном pH и интернализироваться без диссоциации от белка Siglec-7. Альтернативно, при кислом pH антитела по настоящему описанию могут диссоциировать от Siglec-7, как только они интернализуются, а затем разрушаются по эндосомальному/лизосомальному пути. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 связывает Siglec-7 при pH в диапазоне от 5,5 до 8,0, от 5,5 до 7,5, от 5,5 до 7,0, от 5,5 до 6,5, от 5,5 до 6,0, от 6,0 до 8,0, от 6,5 до 8,0, от 7,0 до 8,0, от 7,5 до 8,0, от 6,0 до 7,5, от 6,0 до 7,0, от 6,5 до 7,5. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 диссоциирует от Siglec-7 при pH менее 6,0, менее 5,5, менее 5,0, менее 4,5, менее 4,0, менее 3,5, менее 3,0, менее чем 2,5 или менее 2,0.

[00117] В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию связываются с белком Siglec-7 дикого типа по настоящему описанию, его встречающимися в природе вариантами и/или его связанными с заболеванием вариантами.

[00118] В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию, которые снижают клеточные уровни Siglec-7, связываются с белком Siglec-7, экспрессируемым на поверхности клетки, включая, без ограничения, дендритные клетки человека, макрофаги человека, NK-клетки человека, моноциты человека, остеокласты человека, нейтрофилы человека, Т-клетки человека, Т-хелперы человека, цитотоксические Т-клетки человека, гранулоциты человека, человеческие иммуносупрессорные клетки миелоидного происхождения, и микроглию человека. В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию, которые снижают клеточные уровни Siglec-7 и/или ингибируют взаимодействие между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7, или которые связываются или взаимодействуют с Siglec-7, связываются с белком Siglec-7, экспрессируемым на поверхности клетки, и модулируют (например, индуцируют или ингибируют) по меньшей мере одну активность Siglec-7 по настоящему описанию после связывания с экспрессируемым на поверхности белком Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитело к Siglec-7 специфически связывается с белком Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитело к Siglec-7 дополнительно связывается с по меньшей мере одним дополнительным белком Siglec. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 модулирует одну или более активностей по меньшей мере одного дополнительного белка Siglec или клетки, экспрессирующей по меньшей мере один дополнительный белок Siglec.

Лиганды Siglec-7

[00119] Белки Siglec-7 по настоящему описанию могут взаимодействовать (например, связываться) с одним или более лигандами Siglec-7.

[00120] Иллюстративные лиганды Siglec-7 включают, без ограничения, сialовую кислоту, гликолипиды, содержащие сialовую кислоту, гликопротеины, содержащие сialовую кислоту, альфа-2,8-дисialилсодержащие гликолипиды, разветвленные гликопротеины, содержащие альфа-2,6-связанную сialовую кислоту, гликолипиды, содержащие концевую альфа-2,6-связанную сialовую кислоту, гликопротеины, содержащие концевую альфа-2,3-связанную сialовую кислоту, дисialоганглиозиды (например, ганглиозиды или гликолипиды, содержащие церамид, связанный с сialированным гликаном), секретиремые муцины, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на эритроцитах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на бактериальных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на апоптотических клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на нервных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на глиальных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на микроглии, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на астроцитах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на опухолевых клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на вирусах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на дендритных клетках, лиганды Siglec-7, связанные с бета-амилоидными бляшками, лиганды Siglec-7, связанные с Тау-клубками, лиганды Siglec-7 на вызывающих заболевания белках, лиганды Siglec-7 на вызывающих заболевания пептидах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на макрофагах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на опухоль-ассоциированных макрофагах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на нейтрофилах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на моноцитах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на естественных клетках-киллерах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на Т-клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на Т-хелперах, лиганды Siglec-7,

экспрессируемые на цитотоксических Т-клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на В-клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных макрофагах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных нейтрофилах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных NK-клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на супрессорных клетках миелоидного происхождения, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на иммуносупрессорных клетках миелоидного происхождения, и лиганды Siglec-7, экспрессируемые на регуляторных Т-клетках. В некоторых вариантах осуществления лиганды Siglec-7 по настоящему описанию представляют собой ганглиозиды (например, дисиалоганглиозиды). Дисиалоганглиозиды, как правило, имеют общее лактоцерамидное ядро и один или более остатков сиаловой кислоты.

[00121] Дополнительные примеры подходящих ганглиозидных (например, дисиалоганглиозидов) лигандов перечислены в **Таблице А**. Как правило, ганглиозид (например, дисиалоганглиозиды) представляет собой молекулу, состоящую из гликофинголипида с одной или более сиаловыми кислотами (например, N-ацетилнейраминная кислота, NANA), связанными с сахарной цепью.

Таблица А. Структуры иллюстративных лигандов-ганглиозидов Siglec-7

GM2-1 = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGlc(1-1)Cer
GM3 = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM2,GM2a(?) = bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM2b(?) = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM1,GM1a = bDGalp(1-3)bDGalNAc[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
асиало-GM1,GA1 = bDGalp(1-3)bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
асиало-GM2,GA2 = bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GM1b = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD3 = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD2 = bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1a = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1-альфа = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-6)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GD1b = bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT1a = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT1,GT1b = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
OAc-GT1b = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)aXNeu5Ac9Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT1c = bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GT3 = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGal(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GQ1b = aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer
GGal = aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-1)Cer
где:
aNeu5Ac = 5-ацетил-альфа-нейраминаовая кислота
aNeu5Ac9Ac = 5,9-диацетил-альфа-нейраминаовая кислота
bDGalp = бета-D-галактопираноза
bDGalpNAc = N-ацетил-бета-D-галактопираноза
bDGlc = бета-D-глюкопираноза
Cer = церамид (общий N-ацилированный сфингоид)

Антитела к Siglec-7

[00122] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к антителам к Siglec-7, имеющим одну или более усиленных и/или улучшенных функциональных характеристик. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют одну или более усиленных и/или улучшенных функциональных характеристик по сравнению с контрольным антителом (например, контрольным антителом к Siglec-7, содержащим вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления антитела к

Siglec-7 по настоящему описанию имеют аффинность к Siglec-7 (например, Siglec-7 человека), которая выше, чем аффинность контрольного антитела к Siglec-7 (например, контрольного антитела к Siglec-7, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с клетками человека, такими как дендритные клетки, с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже, чем у контрольного антитела (например, контрольного антитела к Siglec-7, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают клеточные уровни (например, уровни на клеточной поверхности) Siglec-7 с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже, чем у контрольного антитела (например, контрольного антитела к Siglec-7, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62).

[00123] Клеточные уровни Siglec-7 могут относиться, без ограничения, к уровням Siglec-7 на клеточной поверхности, внутриклеточным уровням Siglec-7 и общим уровням Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления снижение клеточных уровней Siglec-7 включает снижение уровней Siglec-7 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, которые снижают клеточные уровни Siglec-7 (например, уровни Siglec-7 на клеточной поверхности), имеют одну или более из следующих характеристик: (1) ингибирует или снижает одну или более активностей Siglec-7; (2) способность ингибировать или уменьшать связывание Siglec-7 с одним или более его лигандами; (3) способность снижать экспрессию Siglec-7 в клетках, экспрессирующих Siglec-7; (4) способность взаимодействовать, связывать или распознавать белок Siglec-7; (5) способность специфически взаимодействовать с белком Siglec-7 или связываться с ним; и (6) способность лечить, облегчать или предотвращать любой аспект заболевания или расстройства, описанного или предполагаемого в данном документе.

[00124] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут иметь наномолярную или даже пикомолярную аффинность к антигену-мишени (например, Siglec-7 человека). В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации (K_D) антитела составляет от около 0,001 нМ до около 124 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет от около 0,001 нМ до около 54,1 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет от около 0,10 нМ до около 2,2 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет от около 0,198 нМ до около 0,740 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет менее около или равна около 130 нМ, 120 нМ, 110 нМ, 100 нМ, 90 нМ, 80 нМ, 70 нМ, 60 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 20 нМ, 10 нМ, 9,5 нМ, 9 нМ, 8,5 нМ, 8 нМ, 7,5 нМ, 7 нМ, 6,5 нМ, 6 нМ, 5,5 нМ, 5 нМ, 4,5 нМ, 4 нМ, 3,5 нМ, 3 нМ, 2,5 нМ, 2 нМ, 1,5 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ, 0,05 нМ, 0,01 нМ, 0,005 нМ, 0,004 нМ, 0,003 нМ, 0,002 нМ или 0,001 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет менее около 46,3 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела более около или равна около 0,001 нМ, 0,005 нМ, 0,01 нМ, 0,05 нМ, 0,1 нМ, 0,2 нМ, 0,3 нМ, 0,4 нМ, 0,5 нМ, 0,6 нМ, 0,7 нМ, 0,8 нМ, 0,9 нМ, 1 нМ, 1,5 нМ, 2 нМ, 2,5 нМ, 3 нМ, 3,5 нМ, 4 нМ, 4,5 нМ, 5 нМ, 5,5 нМ, 6 нМ, 6,5 нМ, 7 нМ, 7,5 нМ, 8 нМ, 8,5 нМ, 9 нМ, 9,5 нМ, 10 нМ, 20 нМ, 30 нМ, 40 нМ, 50 нМ, 60 нМ, 70 нМ, 80 нМ, 90 нМ, 100 нМ, 110 нМ или 120 нМ.

То есть K_D антитела может быть любой из диапазона аффинностей, имеющего верхний предел около 130 нМ, 120 нМ, 110 нМ, 100 нМ, 90 нМ, 80 нМ, 70 нМ, 60 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 20 нМ, 10 нМ, 9,5 нМ, 9 нМ, 8,5 нМ, 8 нМ, 7,5 нМ, 7 нМ, 6,5 нМ, 6 нМ, 5,5 нМ, 5 нМ, 4,5 нМ, 4 нМ, 3,5 нМ, 3 нМ, 2,5 нМ, 2 нМ, 1,5 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ, 0,05 нМ, 0,01 нМ, 0,005 нМ, 0,004 нМ, 0,003 нМ, 0,002 нМ или 0,001 нМ, и независимо выбранный нижний предел около 0,001 нМ, 0,005 нМ, 0,01 нМ, 0,05 нМ, 0,1 нМ, 0,2 нМ, 0,3 нМ, 0,4 нМ, 0,5 нМ, 0,6 нМ, 0,7 нМ, 0,8 нМ, 0,9 нМ, 1 нМ, 1,5 нМ, 2 нМ, 2,5 нМ, 3 нМ, 3,5 нМ, 4 нМ, 4,5 нМ, 5 нМ, 5,5 нМ, 6 нМ, 6,5 нМ, 7 нМ, 7,5 нМ, 8 нМ, 8,5 нМ, 9 нМ, 9,5 нМ, 10 нМ, 20 нМ, 30 нМ, 40 нМ, 50 нМ, 60 нМ, 70 нМ, 80 нМ, 90 нМ, 100 нМ, 110 нМ или 120 нМ, при этом нижний предел меньше верхнего предела. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет около 10 нМ, около 9 нМ, около 8 нМ, около 7 нМ, около 6 нМ, около 5 нМ, около 4 нМ, около 3 нМ, около 2 нМ, около 1 нМ, около 900 пМ, около 800 пМ, около 700 пМ, около 600 пМ, около 500 пМ, около 400 пМ, около 300 пМ, около 200 пМ, около 100 пМ, около 90 пМ, около 80 пМ, около 70 пМ, около 60 пМ, около 50 пМ, около 40 пМ, около 30 пМ, около 20 пМ, около 10 пМ, около 9 пМ, около 8 пМ, около 7 пМ, около 6 пМ, около 5 пМ, около 4 пМ, около 3 пМ, около 2 пМ или около 1 пМ.

[00125] В некоторых вариантах осуществления K_D антитела составляет около 0,198 нМ.

[00126] В данной области техники известны различные способы измерения аффинности антител, включая, например, применение поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии (см., например, пример 1 ниже). В некоторых вариантах осуществления K_D для Siglec-7 определяют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах осуществления K_D для Siglec-7 определяют при температуре приблизительно 4°C. В некоторых вариантах осуществления K_D определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах осуществления K_D определяют с использованием бивалентного антитела и мономерного рекомбинантного белка Siglec-7.

[00127] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют более низкую константу диссоциации (K_D) для Siglec-7, чем контрольное антитело к Siglec-7 (например, контрольное антитело к Siglec-7, содержащее варируемую область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и варируемую область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и/или контрольное антитело к Siglec-7, содержащее варируемую область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и варируемую область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют K_D для мишени (например, Siglec-7 человека), которая на по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 35%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 45%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60 %, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере, около 90%, по меньшей мере, около 95%, или на по меньшей мере около 99% ниже, чем K_D контрольного антитела к Siglec-7 для мишени (например, контрольного антитела к Siglec-7, содержащего варируемую область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и варируемую область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и/или контрольного антитела к Siglec-7, содержащего варируемую

вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

[00130] В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют при помощи поверхностного плазмонного резонанса. В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют при помощи биослойной интерферометрии. В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют при температуре приблизительно 4°C. В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют с использованием экспериментального подхода, как описано в примере 1 ниже.

[00131] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут снижать клеточные уровни (например, уровни на клеточной поверхности) Siglec-7 с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC₅₀) (например, при измерении *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека) в пиколярном диапазоне. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 0,1 пМ до около 25,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 30 пМ до около 25,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 25,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 3,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 1,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 500 пМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 400 пМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 300 пМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 200 пМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет от около 33,2 пМ до около 100 пМ.

[00132] В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет менее около или равна около 500 пМ, 475 пМ, 450 пМ, 425 пМ, 400 пМ, 375 пМ, 350 пМ, 325 пМ, 300 пМ, 275 пМ, 250 пМ, 225 пМ, 200 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 100 пМ, 90 пМ, 80 пМ, 70 пМ, 60 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 20 пМ, 10 пМ, 1 пМ или 0,5 пМ.

[00133] В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет менее около 447,0 пМ. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет более около или равна около 0,1 пМ, 0,5 пМ, 1 пМ, 10 пМ, 20 пМ, 30 пМ, 40 пМ, 50 пМ, 60 пМ, 70 пМ, 80 пМ, 90 пМ, 100 пМ, 125 пМ, 150 пМ, 175 пМ, 200 пМ, 225 пМ, 250 пМ, 275 пМ, 300 пМ, 325 пМ, 350 пМ, 375 пМ, 400 пМ или 425 пМ. То есть EC₅₀ антитела может быть любым из диапазона, имеющего верхний предел около 425 пМ, 400 пМ, 375 пМ, 350 пМ, 325 пМ, 300 пМ, 275 пМ, 250 пМ, 225 пМ, 200 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 100 пМ, 90 пМ, 80 пМ, 70 пМ, 60 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 20 пМ, 10 пМ, 1 пМ или 0,5 пМ, и независимо выбранный меньший предел около 0,1 пМ, 0,5 пМ, 1 пМ, 10 пМ, 20 пМ, 30 пМ, 40 пМ, 50 пМ, 60 пМ, 70 пМ, 80 пМ, 90 пМ, 100 пМ, 125 пМ, 150 пМ, 175 пМ, 200 пМ, 225 пМ, 250 пМ, 275 пМ, 300 пМ, 325 пМ, 350 пМ, 375 пМ или 400 пМ, причем нижний предел меньше верхнего предела. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет любое из около 1 пМ, 2 пМ, 3 пМ, 4 пМ, 5 пМ, 6 пМ, 7 пМ, 8 пМ, 9 пМ, 10 пМ, 15 пМ, 20 пМ, 25 пМ, 30 пМ, 35 пМ, 40 пМ, 45 пМ, 50 пМ, 55 пМ, 60 пМ, 65 пМ, 70 пМ, 75 пМ, 80 пМ, 85 пМ, 90 пМ, 95 пМ, 100 пМ, 105 пМ, 110 пМ, 115 пМ, 120 пМ, 125 пМ, 130 пМ, 135 пМ, 140 пМ, 145 пМ, 150 пМ, 155 пМ, 160 пМ, 165 пМ, 170 пМ, 175 пМ, 180 пМ, 185 пМ, 190 пМ, 195 пМ или 200 пМ.

[00134] В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ антитела составляет около 61,2 пМ.

[00135] В данной области техники известны различные способы измерения значений EC₅₀ антитела, включая, например, проточную цитометрию (см., например, пример 2 ниже). В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием первичных моноцитов человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием первичных макрофагов человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием культивируемых клеток, трансфицированных Siglec-7 человека. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при температуре приблизительно 4°C. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при температуре приблизительно 35°C. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ измеряют при температуре приблизительно 37°C. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ определяют с использованием антител, содержащих константные области, которые демонстрируют повышенное связывание с Fc-рецептором. В некоторых вариантах осуществления EC₅₀ определяют с использованием антител, содержащих константные области, которые демонстрируют пониженное связывание с Fc-рецептором.

[00136] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют более высокую активность в снижении уровней Siglec-7 на клеточной поверхности по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 62 или по сравнению с антителом к Siglec-7, имеющим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают клеточные уровни (например, уровни на клеточной поверхности) Siglec-7 с более низким EC₅₀ (например, при измерении *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека), чем у контрольного антитела к Siglec-7 (например, контрольного антитела к Siglec-7, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и/или контрольного антитела к Siglec-7, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают клеточные уровни (например, уровни на клеточной поверхности) Siglec-7 с EC₅₀, которое на по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 35%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 45%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или на по меньшей мере около 99% ниже, чем EC₅₀ контрольного антитела к Siglec-7 (например, контрольного антитела к Siglec-7, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 62; и/или контрольного антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию снижают клеточные уровни (например, уровни на клеточной поверхности) Siglec-7 с EC_{50} , которое в по меньшей мере около 1 раз, по меньшей мере около 1,1 раза, по меньшей мере около 1,5 раза, по меньшей мере около 2 раза, по меньшей мере около 3 раз, по меньшей мере около 4 раз, по меньшей мере около 5 раз, по меньшей мере около 6 раз, по меньшей мере около 7 раз, по меньшей мере около 8 раз, по меньшей мере около 9 раз, по меньшей мере около 10 раз, по меньшей мере около 12,5 раз, по меньшей мере около 15 раз, по меньшей мере около 17,5 раз, по меньшей мере около 20 раз, по меньшей мере около 22,5 раз, по меньшей мере около 25 раз, по меньшей мере около 27,5 раз, по меньшей мере около 30 раз, по меньшей мере около 50 раз или в по меньшей мере около 100 раз ниже, чем EC_{50} контрольного антитела к Siglec-7 (например, контрольного антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и/или контрольного антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере 30,8 раз ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере 10,2 раз ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере 16,7 раз ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют EC_{50} , которая в по меньшей мере 5,6 раз ниже, чем у антитела к Siglec-7, имеющего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных дендритных клеток человека. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных моноцитов человека. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием первичных макрофагов человека. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием культивируемых клеток, трансфицированных Siglec-7 человека. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют при помощи проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 35°C. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 37°C. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} определяют с использованием антител,

содержащих константные области, которые демонстрируют повышенное связывание с Fc-рецептором. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} определяют с использованием антител, содержащих константные области, которые демонстрируют пониженное связывание с Fc-рецептором. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} измеряют с использованием экспериментального подхода, как описано в примере 2 ниже.

[00137] Любые анализы на клеточной основе *in vitro* или подходящие модели *in vivo*, описанные в данном документе или известные в данной области техники, могут быть использованы для измерения ингибирования или уменьшения взаимодействия (например, связывания) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию ингибируют или уменьшают взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7 путем снижения экспрессии Siglec-7 (например, путем снижения экспрессии на клеточной поверхности Siglec-7). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию ингибируют или уменьшают взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7 по меньшей мере на по меньшей мере 21%, по меньшей мере 22%, по меньшей мере 23%, по меньшей мере 24%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 26%, по меньшей мере 27%, по меньшей мере 28%, по меньшей мере 29%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или более при насыщающих концентрациях антитела с использованием любого анализа *in vitro* или анализа клеточной культуры, описанного в данном документе или известного в данной области техники.

[00138] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию ингибируют кластеризацию Siglec-7 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию ингибируют одну или более активностей белка Siglec-7, включая, без ограничения, противодействие одному или более из следующего: фосфорилирование Tyr-437 и Tyr-460 тирозинкиназами семейства Src, такими как Syk, LCK, FYM и/или ZAP70; рекрутирование и связывание тирозин-специфических протеинфосфатаз SHP1 и SHP2; рекрутирование и связывание с PLC-гамма-1, который действует как фактор обмена гуаниновых нуклеотидов для динамина-1; рекрутирование и связывание с белком, содержащим SH2-домен (например, Crkl); рекрутирование и связывание с

тирозинкиназой селезенки Syk; рекрутирование и связывание с белком 2, связанным с рецептором фактора роста SH3-SH2-SH3 (Grb2); рекрутирование и связывание нескольких SH2-содержащих белков; фосфорилирование Ser-307 и Ser-342 протеинкиназой C; модулированная экспрессия одного или более противовоспалительных цитокинов, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, ИЛ-35, ИЛ-16, ТФР-бета, ИЛ-1Ra, Г-КСФ и растворимых рецепторов для ФНО, ИФН-бета-1a, ИФН-бета-1b или ИЛ-6 в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах, и/или микроглии; снижение мобилизации внутриклеточного кальция; модулированная экспрессия одного или более провоспалительных цитокинов ИФН-а4, ИФН-b, ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-8, СРБ, членов семейства ИЛ-20, LIF, ИФН-гамма, OSM, CNTF, ГМ-КСФ, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL10, ИЛ-33, СРБ, ИЛ-33, MCP-1 и MIP-1-бета в моноцитах, макрофагах, Т-клетках, дендритных клетках, нейтрофилах и/или микроглии; модулированная экспрессия одного или более белков, выбранных из C1qa, C1qb, C1qc, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, PYCARD, CD14, CD16, HLA-DR, и CCR2; ингибирование фосфорилирования киназы, регулируемой внеклеточными сигналами, (ERK); снижение фосфорилирования тирозина на множестве клеточных белков; модулирование экспрессии СС-хемокинового рецептора 7 (CCR7); ингибирование хемотаксиса микроглиальных клеток в отношении клеток, экспрессирующих CCL19 и CCL21; активация фосфоинозитид-3-киназы; уменьшение роста клеток моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток и/или микроглии; уменьшение пролиферации Т-клеток, вызванной дендритными клетками, дендритных клеток костного мозга, моноцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1, микроглии M2, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1 и/или макрофагов M2; ингибирование продукции остеокластов, снижение скорости остеокластогенеза или и то, и другое; снижение выживаемости нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; снижение пролиферации нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, активированной микроглии M1, микроглии M1 и/или микроглии M2; ингибирование миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, активированной микроглии M1, микроглии M1 и/или микроглии M2; ингибирование миграции нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, активированной микроглии M1, микроглии M1 и/или микроглии M2; снижение одной или более функций нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; ингибирование созревания нейтрофилов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и/или микроглии M2; увеличение гибели клеток и апоптоза моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижение фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижение пролиферации моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии; снижение общей

функциональности моноцитов, макрофагов, Т-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов и/или микроглии, фосфорилирование рецептора, содержащего ITAM; фосфорилирование сигнальных молекул, которые опосредуют ITAM сигналинг; снижение активации паттерн-распознающих рецепторов; снижение активации Toll-подобных рецепторов; снижение активации связанного с повреждением клиренса клеточного и белкового дебриса; взаимодействие между Siglec-7 и одним или более его лигандами; взаимодействие между Siglec-7 и корецептором; уменьшение одного или более типов клиренса, выбранных из клиренса апоптотических нейронов, клиренса дебриса нервной ткани, дисфункционального клиренса синапсов, клиренса дебриса ткани, отличной от нервной, клиренса бактерий или других инородных тел, клиренса вызывающих болезнь белков и клиренса опухолевых клеток; ингибирование фагоцитоза одного или более апоптотических нейронов, дебриса нервной ткани, дебриса ткани, отличной от нервной, бактерий, других инородных тел, болезнетворных белков, вызывающих заболевание пептидов, вызывающих заболевание нуклеиновых кислот, вызывающих заболевание липидов или опухолевых клеток; ингибирование клиренса вызывающей заболевание нуклеиновой кислоты, такой как вызывающая заболевание нуклеиновая кислота, которая представляет собой антисмысловую РНК с экспансией GGCCCC-повтора (G2C4); активация клиренса вызывающего заболевание белка, выбранного из бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, Тау-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9) , белка c9RAN, прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, атриального натрийуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипептида AI, сывороточного амилоида A, медина, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гельзолина, кератозпителина, цистатина, AL легкой цепи иммуноглобулина, белка S-IBM, продуктов ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), пептидов с дипептидным повтором (DPR), пептидов с глицин-аланиновым повтором (GA), пептидов с глицин-пролиновым повтором (GP), пептидов с глицин-аргининовым повтором (GR), пептидов с пролин-аланиновым повтором (PA), убиквитина, и пептидов с пролин-аргининовым повтором (PR); ингибирование благоприятного иммунного ответа на различные типы злокачественного новообразования, выбранные из следующего: рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почек, почечно-клеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланома, неходжкинская лимфома, острый миелоидный лейкоз, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркома и рак щитовидной железы; ингибирование положительного иммунного ответа на различные типы неврологических расстройств, выбранных из следующего: деменция, лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, смешанная деменция, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивная гидроцефалия, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатия, болезнь Насу-Хакола, инсульт, острая травма, хроническая травма, эссенциальный тремор, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменция с тельцами Леви, множественная системная атрофия, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальная дегенерация, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозные болезни, саркоидоз, возрастные заболевания, судорожные приступы, травмы спинного мозга, черепно-мозговые травмы, возрастная дегенерация желтого пятна, пигментная глаукома, ретинит , дегенерация сетчатки и рассеянный склероз; ингибирование положительного иммунного ответа на различные типы воспалительных и инфекционных заболеваний, выбранных из следующего: волчанка, острый и хронический колит, заживление ран, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника,

язвенный колит, ожирение, малярия, инфекции дыхательных путей, сепсис, глазная инфекция, системная инфекция, волчанка, артрит, низкая плотность костей, остеопороз, остеогенез, относящееся к остеопорозу заболевание и костная болезнь Педжета; связывание с лигандом Siglec-7 на опухолевых клетках; связывание с лигандом Siglec-7 на дендритных клетках, дендритных клетках костного мозга, моноцитах, микроглии, Т-клетках, нейтрофилах и/или макрофагах; ингибирование уничтожения опухолевых клеток одним или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование антипролиферативной активности в отношении опухолевых клеток одного или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; ингибирование антиметастатической активности в отношении опухолевых клеток одного или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; стимулирование иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, связанных с опухолью макрофагов или регуляторных Т-клеток; ингибирование одного или более рецепторов, содержащих мотив ITAM, таких как TREM1, TREM2, FcγR, DAP10 и DAP12; ингибирование одного или более рецепторов, содержащих мотив D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I (SEQ ID NO: 67); ингибирование сигналинга одним или более паттерн-распознающими рецепторами (PRR), такие как рецепторы, которые определяют патоген-ассоциированный молекулярный паттерн (PAMP), и рецепторы, которые идентифицируют молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением, (DAMP); ингибирование сигналинга одним или более Toll-подобными рецепторами; ингибирование сигнального пути JAK-STAT; ингибирование ядерный фактор каппа В (NFκB); ингибирование PLCγ/PKC/ мобилизации кальция; ингибирование PI3K/Akt, Ras/MAPK сигналинга; сниженная экспрессия одного или более воспалительных рецепторов, таких как CD86, экспрессируемых на одном или более из микроглии, макрофагов, дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов или цитотоксических Т-клеток; увеличение экспрессии одного или более Siglec-7-зависимых генов; нормализация нарушенной экспрессии Siglec-7-зависимого гена; и снижение экспрессии одного или более ITAM-зависимых генов, таких как факторы транскрипции NFAT.

[00139] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком Siglec-7 по настоящему описанию и одним или более лигандами Siglec-7, включая, без ограничения, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на красных кровяных тельцах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на бактериальных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на апоптотических клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на опухолевых клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на вирусах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на дендритных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на дендритных клетках, на нервных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на глиальных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на микроглии, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на астроцитах, лиганды Siglec-7 на бета-амилоидных бляшках, лиганды Siglec-7 на Тау-клубках, лиганды Siglec-7 на вызывающих заболевание белках, лиганды Siglec-7 на вызывающих заболевание пептидах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на макрофагах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на естественных клетках-киллерах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на Т-клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на Т-хелперах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на цитотоксических Т-клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на В-клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на погруженных в опухоль

иммуносупрессорных дендритных клетках, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на погруженных в опухоль иммуносупрессорных макрофагах, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на супрессорных клетках миелоидного происхождения, лиганды Siglec-7, экспрессируемые на регуляторных Т-клетках, секретируемые муцины, сиаловую кислоту, гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту, гликопротеины, содержащие сиаловые кислоты, гликолипиды, содержащие альфа-2,6-связанные сиаловые кислоты, гликопротеины, содержащие альфа-2,6-связанные сиаловые кислоты, гликолипиды, содержащие альфа-2,3-связанные сиаловые кислоты, гликопротеины, содержащие альфа-2,3-связанные сиаловые кислоты, гликопротеин альфа-1-кислоты (AGP), белок CD24 и ганглиозиды.

[00140] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с белком Siglec-7 по настоящему описанию, экспрессируемым на поверхности клетки, и голые антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, которые связываются с белком Siglec-7 по настоящему описанию, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7 за счет снижения эффективных уровней Siglec-7, который доступен для взаимодействия с этими белками или на поверхности клетки, или внутри клетки. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, которые связываются с белком Siglec-7 по настоящему описанию, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7, индуцируя деградацию Siglec-7.

[00141] В контексте данного документа уровни Siglec-7 могут относиться к уровням экспрессии гена, кодирующего Siglec-7; уровням экспрессии одного или более транскриптов, кодирующих Siglec-7; уровням экспрессии белка Siglec-7; и/или к количеству белка Siglec-7, присутствующего в клетках и/или на поверхности клетки. Для определения уровней Siglec-7 можно использовать любые известные в данной области техники способы измерения уровней экспрессии, транскрипции, трансляции и/или содержания или локализации белка.

[00142] Кроме того, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию можно использовать для предотвращения, снижения риска появления или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной дегенерации желтого пятна, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, злокачественного новообразования, включая рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак

яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие Siglec-7, рак щитовидной железы; инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы В, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекции I типа и/или инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию можно использовать для индукции или стимулирования выживаемости, созревания, функциональности, миграции или пролиферации одной или более иммунных клеток у индивидуума, нуждающегося в этом; или для снижения активности, функциональности или выживаемости регуляторных Т-клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированных макрофагов, клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) и/или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) у индивидуума, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию представляют собой моноклональные антитела.

[00143] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию снижает клеточные уровни Siglec-7 (например, уровни на клеточной поверхности, внутриклеточные уровни и/или общие уровни). В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию индуцирует снижение количества Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию индуцирует расщепление Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию индуцирует интернализацию Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию индуцирует шеддинг Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию индуцирует деградацию Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию индуцирует десенсибилизацию Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда в отношении временной активации Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда и временно активирует Siglec-7 перед тем, как индуцировать снижение клеточных уровней Siglec-7 и/или ингибирование взаимодействия (например, связывания) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда и временно активирует Siglec-7 перед индукцией деградации Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда и временно активирует Siglec-7 перед индукцией расщепления Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда и временно активирует Siglec-7 перед индукцией интернализации Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда и временно активирует Siglec-7 перед индукцией шеддинга Siglec-7. В некоторых

вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда и временно активирует Siglec-7 перед индукцией снижения экспрессии Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию действует как миметик лиганда и временно активирует Siglec-7 перед индукцией десенсibilизации Siglec-7.

[00144] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело к Siglec-7 по настоящему описанию представляет собой человеческое антитело, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело или химерное антитело. Иллюстративные описания таких антител можно найти в настоящем описании.

[00145] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с Siglec-7 человека или его гомологом, включая, помимо прочего, белок Siglec-7 млекопитающих или белок Siglec-7 отличного от человека примата. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию специфически связываются с Siglec-7 человека. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с Siglec-7 человека и не обладают перекрестной реактивностью с ортологами или гомологами Siglec-7 других видов.

[00146] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с белком Siglec-7 по настоящему описанию, экспрессируемым на поверхности клетки, и модулируют (например, индуцируют или ингибируют) одну или более активностей Siglec-7 по настоящему описанию после связывания с экспрессируемым на поверхности белком Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию представляют собой инертные антитела.

Иллюстративные антитела к Siglec-7

[00147] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с эпитопом Siglec-7 человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом Siglec-7, который связывается антителом к Siglec-7, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связывают по существу тот же эпитоп Siglec-7, который связывается антителом к Siglec-7, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

[00148] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию конкурентно ингибируют связывание антитела к Siglec-7, содержащего переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию конкурируют с антителом к Siglec-7, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, в отношении связывания с Siglec-7.

[00149] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из любого из антител, перечисленных в таблицах 1-5, 6A-6C, 7A-7C, 8A-8D, 9A-9D, 10, и 11. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию конкурентно ингибируют связывание по

меньшей мере одного антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинаций.

[00150] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию конкурирует с одним или более антителами, содержащими переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинации в отношении связывания с Siglec-7, при этом антитело к Siglec-7 снижает связывание конкурирующих антител к Siglec-7, описанных в данном документе, с Siglec-7 в диапазоне от около 50% до 100% по сравнению со связыванием с Siglec-7 в отсутствие антитела к Siglec-7 по данным измерения с помощью поверхностного плазмонного резонанса. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию конкурирует с одним или более антителами за связывание с Siglec-7, при этом антитело к Siglec-7 снижает связывание одного или более конкурирующих антител к Siglec-7, описанных в данном документе, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100% по сравнению со связыванием с Siglec-7 в отсутствие антитела к Siglec-7 по данным измерения с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

[00151] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое снижает связывание одного или более конкурирующих антител к Siglec-7 с Siglec-7 на 100%, указывает на то, что антитело к Siglec-7 по существу полностью блокирует связывание одного или более антител, содержащих переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22,

S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинации с Siglec-7 по данным измерения с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

[00152] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое конкурирует с антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, и S7AB-H8.45.2, присутствуют в количестве, которое соответствует соотношению 10:1, соотношению 9:1, соотношению 8:1, соотношению 7:1, соотношению 6:1, соотношению 5:1, соотношению 4:1, соотношению 3:1, соотношению 2:1, соотношению 1:1, соотношению 0,75:1, соотношению 0,5:1, соотношению 0,25:1, соотношению 0,1:1, соотношению 0,075:1, соотношению 0,050:1, соотношению 0,025:1, соотношению 0,01:1, соотношению 0,0075:1, соотношению 0,0050:1, соотношению 0,0025:1, соотношению 0,001:1, соотношению 0,00075:1, соотношению 0,00050:1, соотношению 0,00025:1, соотношению 0,0001:1, соотношению 1:10, соотношению 1:9, соотношению 1:8, соотношению 1:7, соотношению 1:6, соотношению 1:5, соотношению 1:4, соотношению 1:3, соотношению 1:2, соотношению 1:0,75, соотношению 1:0,5, соотношению 1:0,25, соотношению 1:0,1, соотношению 1:0,075, соотношению 1:0,050, соотношению 1:0,025, соотношению 1:0,01, соотношению 1:0,0075, соотношению 1:0,0050, соотношению 1:0,0025, соотношению 1:0,001, соотношению 1:0,00075, соотношению 1:0,00050, соотношению 1:0,00025, или соотношению 1:0,0001 (антитело к Siglec-7 по настоящему описанию: конкурирующее антитело к Siglec-7, описанное в данном документе) в конкурентном анализе.

[00153] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое конкурирует с антителом, содержащим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи из антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-

H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45, присутствует в избытке в диапазоне от около 1,5 до 100 раз или более 100 раз по сравнению с количеством одного или более конкурирующих антител к Siglec-7, описанных в данном документе, в конкурентном анализе. В некоторых вариантах осуществления количество антител к Siglec-7 по настоящему описанию в около 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 25 раз, 30 раз, 35 раз, 40 раз, 45 раз, 50 раз, 55 раз, 60 раз, 65 раз, 70 раз, 75 раз, 80 раз, 85 раз, 90 раз, 95 раз, или 100 раз выше по сравнению с количеством одного или более конкурирующих антител к Siglec-7, описанных в данном документе, в конкурентном анализе.

[00154] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связываются с эпитопом Siglec-7 человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом Siglec-7, который связывается по меньшей мере одним антителом, выбранным из любого из антител, перечисленных в **таблицах 1-5, 6A-6C, 7A-7C, 8A-8D, 9A-9D, 10, и 11**. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию связываются с эпитопом Siglec-7 человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом Siglec-7, который связывается по меньшей мере одним антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2.

[00155] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связывают по существу тот же эпитоп Siglec-7, который связывается по меньшей мере одним антителом, выбранным из любого из антител, перечисленных в **таблицах 1-5, 6A-6C, 7A-7C, 8A-8D, 9A-9D, 10, и 11**. В некоторых вариантах осуществления связывание «по существу одного и того же эпитопа Siglec-7» означает связывание по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% аминокислотных остатков в эпитопе.

[00156] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию связывают по существу тот же эпитоп Siglec-7, который связывается по меньшей мере одним антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-

H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2. Подробное описание типовых способов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлено в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," в *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[00157] Любой подходящий конкурентный анализ или анализ связывания Siglec-7, известный в данной области техники, такой как анализ BIAcore, биослойная интерферометрия, анализы методом ИФА или проточная цитометрия, можно использовать для определения того, конкурирует ли антитело к Siglec-7 с одним или более антителами, выбранными из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинации, в отношении связывания с Siglec-7.

[00158] В иллюстративном конкурентном анализе иммобилизованный Siglec-7 или клетки, экспрессирующие Siglec-7 на клеточной поверхности, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с Siglec-7 (например, человека или отличного от человека примата), и второе немеченое антитело, которое исследуют в отношении его способности конкурировать с первым антителом за связывание с Siglec-7. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля иммобилизованный Siglec-7 или клетки, экспрессирующие Siglec-7, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не содержащем второе немеченое антитело. После инкубации в условиях, допускающих связывание первого антитела с Siglec-7, избыток несвязавшегося антитела удаляют и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным Siglec-7 или клетками, экспрессирующими Siglec-7. Если количество метки, связанной с иммобилизованным Siglec-7 или клетками, экспрессирующими Siglec-7, существенно снижено в исследуемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает на то, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с Siglec-7. См., Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Вариабельные области легкой цепи и тяжелой цепи антитела к Siglec-7

[00159] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, две или более или все три) HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 (как показано в таблицах 6A-6C). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как показано в таблицах 6A-6C).

[00160] В некоторых вариантах осуществления HVR-H1 содержит последовательность в соответствии с формулой I: GYAFTX₁X₂WMN (SEQ ID NO: 6), где X₁ представляет собой E, M, G, или A, и X₂ представляет собой T, A, или Y. В некоторых вариантах осуществления HVR-H1 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1-5. В некоторых вариантах осуществления HVR-H2 содержит последовательность в соответствии с формулой II: RIFPGX₁GHTN (SEQ ID NO: 9), где X₁ представляет собой L или Y. В некоторых вариантах осуществления HVR-H2 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 7-8. В некоторых вариантах осуществления HVR-H3 содержит последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10).

[00161] В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1 в соответствии с формулой I, HVR-H2 в соответствии с формулой II и HVR-H3, содержащую последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10). В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1-5, и HVR-H2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 7-8, и HVR-H3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10.

[00162] В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинации (как показано в таблицах 6A-6C).

[00163] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержит переменную область тяжелой цепи, где переменная область тяжелой цепи содержит одну или более из: (а) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H1 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; (б) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей

мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H2 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; и (с) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2.

[00164] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTAAWMN (SEQ ID NO: 4), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10).

[00165] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область легкой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, две или более или все три) HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 (как показано в таблицах 7A-7C). В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как показано в таблицах 7A-7C). В некоторых вариантах осуществления антитело не представляет собой антитело, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащую последовательность RASQDINTYLN (SEQ ID NO: 65), HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20).

[00166] В некоторых вариантах осуществления HVR-L1 содержит последовательность в соответствии с формулой III: $RX_1SX_2DX_3NTYLN$ (SEQ ID NO: 15), где X_1 представляет собой G или A, X_2 представляет собой Q или E, и X_3 представляет собой I, T, или A. В некоторых вариантах осуществления HVR-L1 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 11-14. В некоторых вариантах осуществления HVR-L2 содержит последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления

HVR-L3 содержит последовательность в соответствии с формулой IV: $QX_1GX_2X_3X_4PWT$ (SEQ ID NO: 24), где X_1 представляет собой Q или G, X_2 представляет собой N или G, X_3 представляет собой L, T, V, или I, и X_4 представляет собой L или K. В некоторых вариантах осуществления HVR-L3 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17-23.

[00167] В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит HVR-L1 в соответствии с формулой III, HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3 в соответствии с формулой IV, и антитело не представляет собой антитело, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащую последовательность RASQDINTYLN (SEQ ID NO: 65), HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 11-14, HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17-23, и антитело не представляет собой антитело, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащую последовательность RASQDINTYLN (SEQ ID NO: 65), HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16) и HVR-L3, содержащую последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20).

[00168] В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинации (как показано в таблицах 7A-7C).

[00169] В некоторых вариантах осуществления антитела против Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит одну или более из: (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L1 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; (b) HVR-L2,

содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L2 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; и (с) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2, и антитело не представляет собой антитело, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащую последовательность RASQDINTYLN (SEQ ID NO: 65), HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20).

[00170] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему изобретению содержат HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

[00171] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, две или более, или все три) HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 (как показано в таблицах 6A-6C), и переменную область легкой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, две или более, или все три) HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 (как показано в таблицах 7A-7C). В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как показано в таблицах 6A-6C), а переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как показано в таблицах 7A-7C).

[00172] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1 в соответствии с формулой I, HVR-H2 в соответствии с формулой II и HVR-H3, содержащую последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), и вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1 в соответствии с формулой III, HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3 в соответствии с формулой IV. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1-5, и HVR-H2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 7-8, и HVR-H3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, и вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 11-14, и HVR-L2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 16, и HVR-L3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17-23. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинации (как показано в таблицах 6A-6C); и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2, и любой их комбинации (как показано в таблицах 7A-7C).

[00173] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3, причем антитело содержит HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-

H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблицах 6А-6С и 7А-7С).

[00174] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит одну или более из: (а) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94 %, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H1 антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; (б) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H2 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; и (с) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-

H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; и при этом вариабельная область легкой цепи содержит одну или более из: (а) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L1 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; (б) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L2 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2; и (с) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L3 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2, и антитело не представляет собой

антитело, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащую последовательность RASQDINTYLN (SEQ ID NO: 65), HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20).

[00175] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержит (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTMAWMN (SEQ ID NO: 2), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGYGHTN (SEQ ID NO: 8), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNLLPWT (SEQ ID NO: 17); (b) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDTNTYLN (SEQ ID NO: 12), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20); (c) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23); или (d) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTAAWMN (SEQ ID NO: 4), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

[00176] В конкретном варианте осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему изобретению содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTAAWMN (SEQ ID NO: 4), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

[00177] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 36-48. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи антитела S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-

H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблице 10).

[00178] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTAAWMN (SEQ ID NO: 4), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10).

[00179] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 49-60. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область легкой цепи из антитела S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблице 11).

[00180] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

[00181] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 36-48; и/или переменную область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 49-60. В некоторых вариантах осуществления антитела содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41, 42 и 43; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из

группы, состоящей из SEQ ID NO: 52, 55 и 60. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55; переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

[00182] В одном аспекте антитело к Siglec-7 по настоящему описанию связывается с белком Siglec-7, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 36-48; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 49-60. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41, 42 и 43; и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 52, 55 и 60. В некоторых вариантах осуществления (a) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; (b) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55; (c) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; или (d) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

[00183] В одном аспекте антитело к Siglec-7 по настоящему описанию связывается с белком Siglec-7, причем указанное антитело содержит (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; (b) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55; (c) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; или (d) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

[00184] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

[00185] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи из антитела S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3,

S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблице 10), и переменную область легкой цепи из антитела S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблице 11).

[00186] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43 и 44. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.11, S7AB-H8.13, S7AB-H8.18, S7AB-H8.20, S7AB-H8.35, S7AB-H8.43 или S7AB-H8.44 (как показано в таблице 10). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 52, 54, 55, 58 и 60. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область легкой цепи S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.11, S7AB-H8.13, S7AB-H8.18, S7AB-H8.20, S7AB-H8.35, S7AB-H8.43, или S7AB-H8.44 (как показано в таблице 11). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43 и 44, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 52, 54, 55, 58 и 60. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.11, S7AB-H8.13, S7AB-H8.18, S7AB-H8.20, S7AB-H8.35, S7AB-H8.43, или S7AB-H8.44 (как показано в таблице 10), и переменную область легкой цепи из S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.11, S7AB-H8.13, S7AB-H8.18, S7AB-H8.20, S7AB-H8.35, S7AB-H8.43, или S7AB-H8.44 (как показано в таблице 11).

[00187] Любое из антител по настоящему описанию может продуцироваться линией клеток. В некоторых вариантах осуществления линия клеток может представлять собой линию клеток млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления линия клеток может представлять собой линию гибридных клеток. В других вариантах осуществления линия клеток может представлять собой линию клеток дрожжей. Любая линия клеток, известная в данной области техники, подходящая для продукции

антител, может быть использована для получения антитела по настоящему описанию. Иллюстративные линии клеток для продукции антител описаны в настоящем описании.

[00188] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой моноклональное антитело к Siglec-7, содержащее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи из антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2.

[00189] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.1 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.1. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%

идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, при этом варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.1. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.1 или SEQ ID NO: 40, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.1, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.1. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию содержит последовательность варибельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела

S7AB-H8.1 или SEQ ID NO: 52, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.1 и (c) аминокислотная последовательность HVR-L3 антитела S7AB-H8.1.

[00190] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.2 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.2. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.2. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки

или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.2 или SEQ ID NO: 41, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.2, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.2, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.2. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.2 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.2 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52 заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.2 или SEQ ID NO: 52, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.2, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.2 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S7AB-H8.2.

[00191] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%

идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.11 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.11. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.11. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.11 или

SEQ ID NO: 40, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.11, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.11, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.11. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.11 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54 заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.11 или SEQ ID NO: 54, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.11, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.11 и (c) аминокислотная последовательность HVR-L3 антитела S7AB-H8.11.

[00192] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий

аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.13. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.13. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 42 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.13 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 42 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.13 или SEQ ID NO: 42, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.13, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.13, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.13. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100%

идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.13 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.13 или SEQ ID NO: 54, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.13, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.13, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S7AB-H8.13.

[00193] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат варибельный домен легкой цепи и варибельный домен тяжелой цепи, причем варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42; и/или варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат варибельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.18 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42, при этом варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.18. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат варибельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей

мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.18. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.18 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 42 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.18 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 42 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.18 или SEQ ID NO: 42, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.18, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.18, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.18. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.18 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 55 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.18 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 55 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5

аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.18 или SEQ ID NO: 55, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.18, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.18, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S7AB-H8.18.

[00194] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.20 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.20 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.20 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.20. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.20 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.20. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере

мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.20 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.20 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 44 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.20 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 44 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.20 или SEQ ID NO: 44, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.20, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.20, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.20. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.20 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.20 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 55 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.20 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 55 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.20 или SEQ ID NO: 55, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.20, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.20, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S7AB-H8.20.

[00195] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.35 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.35 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.35 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.35. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.35 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.35. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.35 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.35 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 44 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1

до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.35 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 44 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.35 или SEQ ID NO: 44, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.35, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.35, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.35. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.35 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.35 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.35 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.35 или SEQ ID NO: 58, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.35, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.35, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S7AB-H8.35.

[00196] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.43 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.43 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42.

мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.43 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.43 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.43. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.43 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.43. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.43 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.43 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 42 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.43 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 42 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.43 или SEQ ID NO: 42, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.43, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2

антитела S7AB-H8.43, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.43. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность варибельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.43 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.43 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.43 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.43 или SEQ ID NO: 60, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.43, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.43, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S7AB-H8.43.

[00197] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию содержат варибельный домен легкой цепи и варибельный домен тяжелой цепи, причем варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.44 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43; и/или варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи из антитела S7AB-H8.44 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат варибельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по

меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.44 или аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2, и HVR-H3 из антитела S7AB-H8.44. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.44 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3 из антитела S7AB-H8.44. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.44 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.44 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 43 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S7AB-H8.44 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 43 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VH антитела S7AB-H8.44 или SEQ ID NO: 43, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S7AB-H8.44, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S7AB-H8.44, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S7AB-H8.44. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.44 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к

Siglec-7, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.44 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S7AB-H8.44 или в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 были заменены, вставлены и/или удалены в общем от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях за пределами HVR (то есть в областях FR). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции осуществляют в областях FR. Необязательно антитело к Siglec-7 содержит последовательность VL антитела S7AB-H8.44 или SEQ ID NO: 60, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S7AB-H8.44, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S7AB-H8.44, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S7AB-H8.44.

[00198] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой моноклональное антитело к Siglec-7 S7AB-H8. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, которое связывает по существу тот же эпитоп Siglec-7, что и S7AB-H8. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи моноклонального антитела S7AB-H8. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H8. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H8.

[00199] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой моноклональное антитело к Siglec-7 S7AB-H9. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, которое связывает по существу тот же эпитоп Siglec-7, что и S7AB-H9. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи моноклонального антитела S7AB-H9. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H9. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H9.

[00200] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой моноклональное антитело к Siglec-7 S7AB-H11. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, которое связывает по существу тот же эпитоп Siglec-7, что и S7AB-H11. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи моноклонального антитела S7AB-H11. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H11. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H11.

[00201] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой моноклональное антитело к Siglec-7 S7AB-H12. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, которое связывает по существу тот же эпитоп Siglec-7, что и S7AB-H12. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи моноклонального антитела S7AB-H12. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H12. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи моноклонального антитела S7AB-H12.

[00202] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой антагонистическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 представляет собой агонистическое антитело или инертное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию относятся к классу IgG, классу IgM или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию относятся к классу IgG и имеют изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[00203] Дополнительные антитела к Siglec-7, например, антитела, которые специфически связываются с белком Siglec-7 по настоящему описанию, могут быть идентифицированы, подвергнуты скринингу и/или охарактеризованы в отношении их физических/химических свойств и/или биологической активности с помощью различных анализов, известных в данной области техники.

[00204] Антитела к Siglec-7, способные связывать Fc-гамма-рецепторы

[00205] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию сохраняют способность связывать Fc-гамма (Fc γ) рецепторы. В некоторых вариантах осуществления такие антитела, когда они имеют правильную эпитопную специфичность, совместимую с активацией рецепторов, могут иметь особенности, которые позволяют им образовывать кластеры и временно стимулировать, например, рецептор Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления такие антитела могут впоследствии действовать как ингибиторы длительного действия в отношении экспрессии Siglec-7 и/или одной или более активностей белка Siglec-7 путем индукции дегградации Siglec-7, десенсибилизации Siglec-7, расщепления Siglec-7, интернализации Siglec-7, шеддинга Siglec-7, снижения экспрессии Siglec-7 и/или лизосомальной дегградации Siglec-7.

[00206] In vivo антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут кластеризовать рецепторы и временно активировать Siglec-7 с помощью одного или более из множества возможных механизмов. Некоторые изотипы антител человека, такие как IgG2, благодаря своей уникальной структуре обладают внутренней способностью кластеризовать рецепторы или сохранять рецепторы в кластеризованной конфигурации, тем самым временно активируя рецепторы, такие как Siglec-7, без связывания с Fc-рецептором (например, White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138–148).

[00207] В некоторых вариантах осуществления другие антитела могут кластеризовать рецепторы (например, Siglec-7) путем связывания с Fc-гамма-рецепторами на соседних клетках. В некоторых вариантах осуществления связывание константной Fc-области IgG антитела с Fc-гамма-рецепторами может приводить к агрегации антител, и антитела, в свою очередь, могут агрегировать рецепторы, с которыми они связываются, через свою переменную область (Chu et al. (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933; and Wilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101–113). В некоторых вариантах осуществления связывание с ингибирующим Fc-

гамма-рецептором Fc γ R (Fc γ RIIB), который не вызывает секрецию цитокинов, окислительный взрыв, усиление фагоцитоза и усиление антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ), является предпочтительным способом кластеризации антител *in vivo*, поскольку связывание с Fc γ RIIB не связано с побочными эффектами иммунного ответа.

[00208] Существуют другие механизмы, с помощью которых антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут кластеризовать рецепторы. Например, фрагменты антител (например, фрагменты Fab), которые сшиты вместе, можно использовать для кластеризации рецепторов (например, Siglec-7) аналогично антителам с Fc-областями, которые связывают Fc-гамма-рецепторы, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления сшитые фрагменты антител (например, фрагменты Fab) могут временно функционировать как агонистические антитела, если они индуцируют кластеризацию рецепторов на поверхности клетки и связывают соответствующий эпитоп на мишени (например, Siglec-7).

[00209] Следовательно, в некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию, которые связывают белок Siglec-7, могут включать антитела, которые из-за своей эпитопной специфичности связывают Siglec-7 и временно активируют одну или более активностей Siglec-7, прежде чем они, например, снижат клеточные уровни Siglec-7, ингибируют одну или более активностей Siglec-7 и/или ингибируют взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления такие антитела могут связываться с лиганд-связывающим сайтом на Siglec-7 и временно имитировать действие природного лиганда или стимулировать антиген-мишень для передачи сигнала путем связывания с одним или более доменами, которые не являются лиганд-связывающими сайтами. В некоторых вариантах осуществления такие антитела не будут мешать связыванию лиганда. В некоторых вариантах осуществления, независимо от того, связываются ли антитела с сайтом связывания лиганда на Siglec-7 или нет, антитела могут впоследствии более длительно действовать как ингибиторы экспрессии Siglec-7 и/или одной или более активностей белка Siglec-7 путем индукции деградации Siglec-7, десенсибилизации Siglec-7, расщепления Siglec-7, интернализации Siglec-7, шеддинга Siglec-7, снижения экспрессии Siglec-7 и/или лизосомальной деградации Siglec-7.

[00210] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 согласно настоящему описанию представляет собой антитело, которое временно индуцирует одну или более активностей белка Siglec-7. Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут быть исследованы в отношении их способности временно индуцировать одну или более активностей белка Siglec-7 с использованием любого подходящего метода или анализа, известного в данной области техники и описанного в данном документе. Независимо от активности, которую такие антитела временно индуцируют, такие антитела могут впоследствии действовать как ингибиторы длительного действия в отношении экспрессии Siglec-7 и/или одной или более активностей белка Siglec-7 путем индукции деградации Siglec-7, десенсибилизации Siglec-7, расщепления Siglec-7, интернализации Siglec-7, шеддинга Siglec-7, снижения экспрессии Siglec-7 и/или лизосомальной деградации Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 временно индуцирует одну или более активностей белка Siglec-7 независимо от связывания с Fc-рецептором.

[00211] Иллюстративные изотипы и модификации Fc антител представлены в таблице В ниже. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое способно связывать Fc-гамма-рецептор, имеет изотип Fc, указанный в таблице В ниже.

Таблица В: Иллюстративные изотипы Fc антитела к Siglec-7, которые способны связываться с Fc-гамма-рецептором

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
IgG1	N297A
IgG1	D265A и N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A и L235A L234A и G237A L234A и L235A, и G237A
IgG1	D270A, и/или P238D, и/или L328E, и/или E233D, и/или G237D и/или H268D, и/или P271G, и/или A330R
IgG1	P238D и L328E, и E233D, и G237D, и H268D, и P271G, и A330R
IgG1	P238D, и L328E, и G237D, и H268D, и P271G, и A330R
IgG1	P238D, и S267E, и L328F, и E233D, и G237D, и H268D, и P271G, и A330R
IgG1	P238D и S267E, и L328F, и G237D, и H268D, и P271G, и A330R
IgG2	V234A и G237A
IgG4	L235A и G237A, и E318A
IgG4	S228P и L236E
Гибрид IgG2/4	а.к. 118-260 IgG2 и а.к. 261-447 IgG4
	H268Q и V309L; и A330S и P331S
IgG1	C226S и C229S, и E233P, и L234V, и L235A
IgG1	L234F и L235E, и P331S
IgG2	C232S или C233S
IgG2	A330S и P331S
IgG1	S267E и L328F Только S267E
IgG2	S267E и L328F
IgG4	S267E и L328F
IgG2	НС ДТ с LC (легкой цепью) каппа НС C127S с LC каппа LC C214S каппа LC C214S каппа и НС C233S LC C214S каппа и НС C232S Любая из перечисленных выше мутаций вместе с мутациями P330S и P331S Фрагмент F(ab') ₂ IgG1 ДТ и любая из перечисленных выше мутаций
IgG1	Замените константную область тяжелой цепи 1 (CH1) и шарнирную область IgG1 на CH1 и шарнирную область IgG2

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPHKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP (SEQ ID NO: 66) C LC каппа
IgG1	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с A330L/A330S, и/или L234F, и/или L235E, и/или P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с M252Y, и/или S254T, и/или T256E
IgG1 мыши, IgG2a мыши, IgG2b мыши	Для моделей болезней мышей
IgG4	ДТ
IgG1	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.
IgG2	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.

[00212] В дополнение к изотипам, описанным в таблице С, и не желая быть связанными теорией, считается, что антитела с изотипами IgG1 или IgG3 человека и их мутанты (например, Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 2009, 20:685–691), которые связывают Fc-гамма-рецепторы I, IIА, IIС, IIIА, IIIB человека и/или Fc-гамма-рецепторы I, III и IV мыши, также могут действовать как временные агонистические антитела.

[00213] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающееся с Fc-гамма-рецептором, относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит одну или более (например, одну или более, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более или все тринадцать) аминокислотных замен в Fc-области в положении остатка, выбранном из группы, состоящей из: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, N297A, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y и любой их комбинации (положение остатка согласно нумерации EU или Kabat). В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении E430G. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях L234A, L235A и P331S. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении N297A. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях K322A и E430G. В некоторых

вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях A330S, P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях K322A, A330S и P331S. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях K322A, P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях A330S, P331S и E430G. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении C127S. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию имеет изотип IgG1 и содержит аминокислотную замену S267E в положении остатка 267 и аминокислотную замену L328F в положении остатка 328, причем нумерация положения остатка соответствует нумерации EU.

[00214] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG2 человека содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах осуществления ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIb (FcγIIb). В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно Fc-области дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из V234A (Alegre *et al.*, (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu *et al.*, (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Cole *et al.* (1999) *Transplantation*, 68:563-571), H268Q, V309L, A330S, P331S (US 2007/0148167; Armour *et al.* (1999) *Eur J Immunol* 29: 2613-2624; Armour *et al.* (2000) *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27; Armour *et al.* (2000) *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27), C232S, и/или C233S (White *et al.*(2015) *Cancer Cell* 27, 138–148), S267E, L328F (Chu *et al.*, (2008) *Mol Immunol*, 45:3926-3933), M252Y, S254T, и/или T256E, где положение аминокислот соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[00215] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG2 с константным доменом тяжелой цепи, который содержит аминокислотную замену C127S, при этом положение аминокислоты соответствует системе нумерации EU или Kabat (White *et al.*, (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle *et al.*, (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; и WO2008079246).

[00216] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG2 с константным доменом легкой цепи каппа, который содержит аминокислотную замену C214S, при этом положение аминокислоты соответствует системе нумерации EU или Kabat (White *et al.*, (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle *et al.*, (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; и WO2008079246).

[00217] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область IgG1 мыши. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG1 человека содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело,

связывающее Fc-гамма-рецептор, связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах осуществления ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIВ (FcγIIВ). В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно Fc-области дикого типа того же изоформа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из N297A (Bolt S *et al.* (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A (Shields *et al.* (2001) *R. J. Biol. Chem.* 276, 6591–6604), D270A, L234A, L235A (Hutchins *et al.* (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984; Alegre *et al.*, (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu *et al.*, (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Alegre *et al.* (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu *et al.* (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R, C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E (McEarchern *et al.*, (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P331S (Sazinsky *et al.*, (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:20167-20172), S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T, T256E, N297Q, P238S, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, и/или T394D, где положение аминокислот соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[00218] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константный домен тяжелой цепи 1 изоформа IgG2 (CH1) и шарнирную область (White *et al.*, (2015) *Cancer Cell* 27, 138–148). В некоторых вариантах осуществления CH1 изоформа IgG2 и шарнирная область содержат аминокислотную последовательность

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления Fc-область антитела содержит аминокислотную замену S267E, аминокислотную замену L328F или то и другое, и/или аминокислотную замену N297A или N297Q, при этом положение аминокислоты соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[00218] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит константную область IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG4 человека содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах осуществления ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIВ (FcγIIВ). В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно Fc-области дикого типа того же изоформа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из L235A, G237A, S228P, L236E (Reddy *et al.*, (2000) *J Immunol*, 164:1925-1933), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T, и/или T256E, при этом положение аминокислоты соответствует системе нумерации EU или Kabat.

[00219] В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, имеет гибридный изотип IgG2/4. В некоторых вариантах осуществления антитело, связывающее Fc-гамма-рецептор, содержит аминокислотную последовательность, содержащую аминокислоты 118-260 по нумерации EU или Kabat IgG2 человека и аминокислоты 261-447 по EU или Kabat IgG4 человека (WO 1997/11971; WO 2007/106585).

[00220] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG4 мыши (Bartholomaeus, *et al.* (2014). *J. Immunol.* 192, 2091–2098).

[00221] В некоторых вариантах осуществления Fc-область дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из A330L, L234F; L235E или P331S в соответствии с нумерацией EU или Kabat; и любой их комбинации.

[00222] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-области в положении остатка, выбранных из C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y и любой их комбинации, где нумерация остатков соответствует нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E430G, L234A, L235A и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении N297A, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E430G и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E430G, A330S и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, A330S и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и A330S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положении C127S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU.

[00223] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU.

Инертные антитела

[00224] Другой класс антител к Siglec-7 по настоящему описанию включает инертные антитела. Используемый в данном документе термин «инертные» антитела относится к антителам, которые специфически связывают свой антиген-мишень (например, Siglec-7), но не модулируют (например, снижают/ингибируют или активируют/индуцируют) функцию антигена. Например, в случае Siglec-7 инертные антитела не модулируют клеточные уровни Siglec-7, не модулируют взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7 или не модулируют одну или более активностей белка Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитела, которые не обладают

способностью кластеризовать Siglec-7 на поверхности клетки, могут представлять собой инертные антитела, даже если они обладают эпитопной специфичностью, совместимой с активацией рецептора.

[00225] В некоторых вариантах осуществления антитела, которые связывают белок Siglec-7, могут включать антитела, которые связывают Siglec-7, но из-за их эпитопной специфичности или характеристик не снижают клеточные уровни Siglec-7 и/или ингибируют взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления такие антитела можно использовать в качестве карго, например, для транспорта токсинов (например, химиотерапевтических средств) в опухолевые клетки. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию являются инертными антителами, которые связывают Siglec-7, но неспособны снижать клеточные уровни Siglec-7, ингибируя взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7 или индуцируя одну или более активностей белка Siglec-7.

[00226] Антитела, которые либо снижают, либо не снижают клеточные уровни Siglec-7 в клетках, можно комбинировать с инертной Fc-областью, которая демонстрирует пониженное связывание с одним или более Fc-гамма-рецепторами. Примеры таких Fc-областей и модификаций представлены в **таблице С**. В некоторых вариантах осуществления антитело с инертной Fc-областью имеет изотип Fc, указанный в **таблице С**.

Ингибирующие антитела к Siglec-7

[00227] Третий класс антител к Siglec-7 по настоящему описанию включает антитела, которые блокируют или иным образом ингибируют одну или более активностей Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитела, которые связывают белок Siglec-7, могут включать антитела, которые снижают клеточные уровни Siglec-7 (например, уровни Siglec-7 на клеточной поверхности), ингибируют взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и/или одним или более лигандами Siglec-7 и ингибируют одну или более активностей белка Siglec-7. Такие антитела ингибируют одну или более активностей белка Siglec-7 либо путем предотвращения взаимодействия (например, связывания) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7, либо путем предотвращения трансдукции сигнала от внеклеточного домена Siglec-7 в цитоплазме клетки в присутствии одного или более лигандов Siglec-7. Антитела также могут ингибировать одну или более активностей белка Siglec-7, путем снижения уровней Siglec-7 на клеточной поверхности, путем индукции деградации Siglec-7, десенсибилизации Siglec-7, расщепления Siglec-7, интернализации Siglec-7, шеддинга Siglec-7, снижения экспрессии Siglec-7 и/или лизосомальной деградации Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления такие антитела к Siglec-7 могут временно не активировать Siglec-7.

[00228] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут обладать эпитопной специфичностью временного агонистического антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, но иметь Fc-домен, который не способен связывать Fc-гамма-рецепторы и, таким образом, не может, например, временно кластеризовать и активировать Siglec-7.

[00229] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию обладают, без ограничения, одной или более из следующих активностей: способность уменьшать связывание белка Siglec-7 с одним или более лигандами Siglec-7, такие как гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту или гликопротеины, содержащие сиаловую кислоту, способность снижать связывание белка-супрессора цитокиновых сигналов (SOCS) (например, белка SOCS3) с белком Siglec-7, способность увеличивать протеасомальное разрушение белка Siglec-7, способность снижать функциональную экспрессию Siglec-7 на

поверхности циркулирующих дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, Т-клеток и/или микроглии, способность снижать фосфорилирование Tug-437 и Tug-460 с помощью тирозинкиназы семейства Src, такой как Syk, LCK, FYM и/или ZAP70, способность уменьшать рекрутирование и связывание тирозин-специфических протеинфосфатаз SHP1 и SHP2, способность уменьшать рекрутирование и связывание с PLC-g1, который действует как гуаниновый нуклеотид, фактор обмена для динамина-1, способность уменьшать рекрутирование и связывание с Crkl, способность снижать рекрутирование и связывание тирозинкиназы селезенки Syk, способность уменьшать рекрутирование и связывание с белком, связанным белком 2, связанным с рецептором фактора роста SH3-SH2-SH3 (Grb2), способность снижать рекрутирование и связывание нескольких SH2-содержащие белки, способность увеличивать мобилизацию внутриклеточного кальция, способность модулировать выработку провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-8 и ФНО- α , способность снижать активацию фосфоинозитид-3-киназы, способность увеличивать рост моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток и/или микроглии, способность увеличивать выживаемость моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток, и/или микроглии, способность увеличивать фосфорилирование тирозина на множестве клеточных белков, способность увеличивать фагоцитарную активность моноцитов, макрофагов, дендритных клеток и/или микроглии, способность увеличивать пролиферацию клеток моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-клеток и/или микроглии, способность увеличивать фосфорилирование сигнальных молекул, которые опосредуют ITAM сигналинг, способность увеличивать функцию паттерн-распознающих рецепторов, способность увеличивать функцию Toll-подобных рецепторов, способность увеличивать функцию рецепторов молекулярного паттерна, связанного с повреждением (DAMP), способность модулировать экспрессию ССхемокинового рецептора 7 (CCR7) и способность увеличивать клиренс клеточного и белкового дебриса.

[00230] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию имеют Fc-область, которая демонстрирует пониженное связывание с одним или более Fc-гамма-рецепторами. Примеры таких Fc-областей и модификаций представлены в **таблице С** ниже. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет изотип Fc, указанный в **таблице С**.

Изотипы Fc антител с пониженным связыванием с Fc-гамма-рецепторами

[00231] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 с пониженным связыванием с Fc-гамма-рецепторами имеют изотип Fc, указанный в **таблице С** ниже.

Таблица С: Иллюстративные изотипы Fc антитела к Siglec-7 с пониженным связыванием с Fc-гамма-рецептором

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
IgG1	N297A или N297Q, и/или D270A
IgG1	D265A, D270A и/или N297A
IgG1	L234A и L235A
IgG2	V234A и G237A
IgG4	F235A и G237A, и E318A E233P и/или F234V N297A или N297Q
IgG4	S228P и L236E S241P

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
	S241P, и L248E S228P и F234A, и L235A
IgG2	H268Q и V309L, и A330S, и P331S
IgG1	C220S и C226S, и C229S, и P238S
IgG1	C226S и C229S, и E233P и L234V, и L235A
IgG1	E233P и L234V, и L235A, и G236-удаленный P238A D265A N297A A327Q или A327G P329A
IgG1	K322A и L234A, и L235A
IgG1	L234F и L235E, и P331S
IgG1 или IgG4	T394D
IgG2	C232S или C233S N297A или N297Q
IgG2	V234A и G237A, и P238S, и H268A, и V309L, и A330S и P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	модификации дельта a, b, c, ab, ac, g
IgG1	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с A330L или L234F и/или L235E и/или P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с M252Y, и/или S254T, и/или T256E

[00232] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG1 мыши. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG1 человека содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно Fc-области дикого типа того же изотипа).

[00233] В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из N297A, N297Q (Bolt S *et al.* (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A, D270A, L234A, L235A (McEarchern *et al.*, (2007) *Blood*, 109:1185-1192), C226S, C229S (McEarchern *et al.*, (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P238S (Davis *et al.*, (2007) *J Rheumatol*, 34:2204-2210), E233P, L234V (McEarchern *et al.*, (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P238A, A327Q, A327G, P329A (Shields RL, *et al.*, (2001) *J Biol Chem.* 276(9):6591-604), K322A, L234F, L235E (Hezareh, *et al.*, (2001) *J Virol* 75, 12161–12168; Oganessian *et al.*, (2008). *Acta Crystallographica* 64, 700–704), P331S (Oganessian *et al.*, (2008) *Acta Crystallographica* 64, 700–704), T394D (Wilkinson *et al.* (2013) *MAbs* 5(3): 406–417), A330L, M252Y, S254T, и/или T256E, где положение аминокислот соответствует системе нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления Fc-область дополнительно содержит

делецию аминокислоты в положении, соответствующем глицину 236 в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

[00234] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 имеет изотип IgG1 с константной областью тяжелой цепи, которая содержит аминокислотную замену C220S в соответствии с системой нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления Fc-область дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из A330L, L234F; L235E и/или P331S в соответствии с системой нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит константную область IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG2 человека содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно Fc-области дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, V309L, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, и/или T256E, где положение аминокислот соответствует системе нумерации EU или Kabat (Vafa O. *et al.*, (2014) *Methods* 65:114–126).

[00235] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 содержит константную область IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG4 человека содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно Fc-области дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из E233P, F234V, L235A, G237A, E318A (Hutchins *et al.* (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984), S228P, L234A/F234A, L236E, S241P, L248E (Reddy *et al.*, (2000) *J Immunol*, 164:1925-1933; Angal *et al.*, (1993) *Mol Immunol.* 30(1):105-8; US 8614299 B2; Vafa O. *et al.*, (2014) *Methods* 65:114–126), T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, и/или N297Q, где положение аминокислот соответствует системе нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет изотип IgG4 и содержит аминокислотную замену S228P в положении остатка 228, аминокислотную замену F234A в положении остатка 234 и аминокислотную замену L235A в положении остатка 235 (положение остатка согласно нумерации EU).

[00236] В некоторых вариантах осуществления Fc-область дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из M252Y, S254T и/или T256E, где положение аминокислоты соответствует системе нумерации EU или Kabat.

Дополнительные мутации IgG

[00237] В некоторых вариантах осуществления один или более вариантов IgG1, описанных в данном документе, можно комбинировать с мутацией A330L (Lazar *et al.*, (2006) *Proc Natl Acad Sci USA*, 103:4005-4010), или одной или более мутациями L234F, L235E, и/или P331S (Sazinsky *et al.*, (2008) *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:20167-20172), где положение аминокислоты соответствует системе нумерации EU или Kabat для устранения активации комплемента. В некоторых вариантах осуществления варианты IgG, описанные в данном документе, могут быть объединены с одной или более мутациями для увеличения времени полужизни антитела к Siglec-7 в сыворотке человека (например, мутации M252Y, S254T, T256E в

соответствии с системой нумерации EU или Kabat) (Dall'Acqua *et al.*, (2006) *J Biol Chem*, 281:23514-23524; и Strohl *et al.*, (2009) *Current Opinion in Biotechnology*, 20:685–691).

[00238] В некоторых вариантах осуществления вариант IgG4 по настоящему описанию может быть объединен с мутацией S228P в соответствии с системой нумерации EU или Kabat (Angal *et al.*, (1993) *Mol Immunol*, 30:105-108) и/или с одной или более мутациями, описанными в Peters *et al.*, (2012) *J Biol Chem*. 13;287(29):24525-33) для усиления стабилизации антител.

Биспецифические антитела

[00239] Определенные аспекты настоящего описания относятся к биспецифическим антителам, которые связываются с одним или более доменами белка Siglec-7 по настоящему описанию и вторым антигеном. Способы получения биспецифических антител хорошо известны в данной области техники и описаны в данном документе. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела по настоящему описанию связываются с одним или более аминокислотными остатками белка Siglec-7 по настоящему описанию, такими как один или более аминокислотных остатков Siglec-7 человека (SEQ ID NO: 63), или аминокислотные остатки в белке Siglec-7, соответствующие аминокислотным остаткам SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела по настоящему изобретению распознают первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах осуществления первый антиген представляет собой белок Siglec-7 или его природный вариант. В некоторых вариантах осуществления второй антиген также представляет собой белок Siglec-7 или его природный вариант. В некоторых вариантах осуществления второй антиген представляет собой антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер (см., например, Gabathuler R., *Neurobiol. Dis.* 37 (2010) 48-57). Такие вторые антигены включают, без ограничения, трансферриновый рецептор (TR), инсулиновый рецептор (HIR), рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белки 1 и 2, связанные с рецепторами липопротеинов низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептор дифтерийного токсина, CRM197, однодоменное антитело ламы, TMEM 30(A), домен трансдукции белка, TAT, Syn-B, пенетратин, полиаргининовый пептид, пептиды Ангиопеп, такой как ANG1005 (см., например, Gabathuler, 2010), и другие белки клеточной поверхности, которые обогащены эндотелиальными клетками гематоэнцефалического барьера (см., например, Daneman *et al.*, *PLoS One*. 2010 Oct 29; 5 (10): e13741). В некоторых вариантах осуществления второй антиген представляет собой вызывающий заболевание белок, включая, без ограничения, бета-амилоид, олигомерный бета-амилоид, бета-амилоидные бляшки, белок-предшественник амилоида или его фрагменты, Тау-белок, IAPP, альфа-синуклеин, TDP-43, белок FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белок c9RAN, прионный белок, PrPSc, хантингтин, кальцитонин, супероксиддисмутаза, атаксин, атаксин 1, атаксин 2, атаксин 3, атаксин 7, атаксин 8, атаксин 10, тельца Леви, атриальный натрийуретический фактор, островковый амилоидный полипептид, инсулин, аполипопротеин AI, сывороточный амилоид A, медин, пролактин, транстиретин, лизоцим, бета-2-микроглобулин, гельзолин, кератоэпителин, цистатин, AL легкую цепь иммуноглобулина, белок S-IBM, продукты ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), пептиды с дипептидными повтором (DPR), пептиды с глицин-аланиновым повтором (GA), пептиды с глицин-пролиновым повтором (GP), пептиды с глицин-аргининовым повтором (GR), пептиды с пролин-аланиновым повтором (PA), убиквитин, пептиды с пролин-аргининовым повтором (PR). В некоторых вариантах осуществления второй антиген представляет собой один или более лигандов и/или белков, экспрессируемых на иммунных клетках, включая, без ограничения, CD33, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38,

TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, CSF1-рецептор, CD3 и фосфатидилсерин. В некоторых вариантах осуществления второй антиген представляет собой белок, липид, полисахарид или гликолипид, экспрессируемый на одной или более опухолевых клетках.

Фрагменты антител

[00240] Некоторые аспекты настоящего описания относятся к фрагментам антител, которые связываются с одним или более белками Siglec-7 по настоящему описанию, природным вариантом белка Siglec-7 и связанным с заболеванием вариантом белка Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv.

[00241] В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела используется в комбинации со вторым антителом к Siglec-7 и/или с одним или более антителами, которые специфически связывают вызывающий заболевание белок, выбранный из следующего: бета-амилоид, олигомерный бета-амилоид, бета-амилоидные бляшки, белок-предшественник амилоида или их фрагменты, Tau, IAPP, альфа-синуклеин, TDP-43, белок FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосома 9), белок c9RAN, прионный белок, PrPSc, хантингтин, кальцитонин, супероксиддисмутаза, атаксин, атаксин 1, атаксин 2, атаксин 3, атаксин 7, атаксин 8, атаксин 10, тельце Леви, атриальный натрийуретический пептид, островковый амилоидный полипептид, инсулин, аполипопротеин AI, сывороточный амилоид A, медин, пролактин, транстиретин, лизоцим, бета 2 микроглобулин, гельзолин, кератоэпителин, цистатин, AL легкая цепь иммуноглобулина, супероксиддисмутаза (SOD), белок S-IBM, продукты ассоциированной с повторами не-ATG-трансляции (RAN), пептиды с дипептидным повтором (DPR), пептиды с глицин-аланиновым повтором (GA), пептиды с глицин-пролиновым повтором (GP), пептиды с глицин-аргининовым повтором (GR), пептиды с пролин-аланиновым повтором (PA), убиквитин, и пептиды с пролин-аргининовым повтором (PR), и любая их комбинация; или с одним или более антителами, которые связывают иммуномодулирующий белок, выбранный из группы, состоящей из: CD33, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, CD47, рецептора CSF-1, Siglec-5, Siglec-9, Siglec-11, фосфатидилсерина, и любой их комбинации.

[00242] В некоторых вариантах осуществления фрагменты антител по настоящему описанию могут быть функциональными фрагментами, которые связывают тот же эпитоп, что и любое из антител к Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антител представляют собой миниатюрные версии антител к Siglec-7 или фрагментов антител по настоящему описанию, которые имеют тот же эпитоп, что и соответствующее полноразмерное антитело, но имеют гораздо меньшую молекулярную массу. Такие миниатюрные фрагменты антител к Siglec-7 могут иметь лучшую способность проникновения в мозг и более короткое время полужизни, что является преимуществом для визуализации и диагностических целей (см., например, Lütje S *et al.*, *Bioconjug Chem.* 2014 Feb 19;25(2):335-41; Tavaré R *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Jan 21;111(3):1108-13; и Wiehr S *et al.*, *Prostate.* 2014 May;74(7):743-55). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления фрагменты антител к Siglec-7 по настоящему описанию имеют лучшее проникновение в мозг по сравнению с их соответствующими полноразмерными антителами и/или имеют более короткое время полужизни по сравнению с их соответствующими полноразмерными антителами.

[00243] Любое из описанных в данном документе антител дополнительно содержит каркасную область. В некоторых вариантах осуществления каркасная область представляет собой каркасную область иммуноглобулина человека. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело (например, антитело к Siglec-7) содержит HVR, как в любом из вышеперечисленных вариантов осуществления, и дополнительно содержит акцепторную каркасную область человека, например, каркасную область иммуноглобулина человека или консенсусную каркасную область человека. Каркасные области иммуноглобулина человека могут быть частью антитела человека, или антитело отличного от человека животного может быть гуманизировано путем замены одной или более эндогенных каркасных областей человеческими каркасными областями(-ью). 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. J. Immunol.* 151:2296 (1993)); каркасные области, полученные из консенсусной последовательности антител человека конкретной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепи (см., например, Carter *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); и Presta *et al. J. Immunol.*, 151:2623 (1993)) зрелые каркасные области человека (соматически мутированные) или каркасные области зародышевой линии человека (см., например, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); и каркасные области, полученные из скрининговых библиотек FR (см., например, Baca *et al., J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) и Rosok *et al., J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

[00244] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, две или более, три или более или все четыре) каркасных областей, выбранных из FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH (как показано в таблицах 8A-8D). В некоторых вариантах осуществления FR1 VH содержит последовательность QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCAS (SEQ ID NO: 25). В некоторых вариантах осуществления VH FR2 содержит последовательность в соответствии с формулой V: WVRQAX₁GQX₂LEWIG (SEQ ID NO: 29), где X₁ представляет собой P или R, и X₂ представляет собой G или R. В некоторых вариантах осуществления FR2 VH содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-28. В некоторых вариантах осуществления FR3 VH содержит последовательность YAQKFQGRAT LTEDTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 30). В некоторых вариантах осуществления FR4 VH содержит последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 31). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую FR1 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 25, FR2 VH в соответствии с формулой V, FR3 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 30, и FR4 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 31.

[00245] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую FR1 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 25, FR2 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 26-28, FR3 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 30, и FR4 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 31.

[00246] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-

H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблицах 8A-8D).

[00247] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, две или более, три или более или все четыре) каркасных областей, выбранных из FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL (как показано в таблицах 9A-9D). В некоторых вариантах осуществления FR1 VL содержит последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC (SEQ ID NO: 32). В некоторых вариантах осуществления FR2 VL содержит последовательность WYQQ KPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 33). В некоторых вариантах осуществления FR3 VL содержит последовательность GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 34). В некоторых вариантах осуществления FR4 VL содержит последовательность FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 35). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую FR1 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 32, FR2 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 33, FR3 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 34, и FR4 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 35.

[00248] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблицах 9A-9D).

[00249] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, две или более, три или более или все четыре) каркасных областей, выбранных из FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH (как показано в таблицах 8A-8D) и вариабельную область легкой цепи, содержащую одну или более (например, одну или более, два или более, три или более или все четыре) каркасных областей, выбранных из FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL (как показано в таблицах 9A-9D). В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую FR1 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 25, FR2 VH в соответствии с формулой V, FR3 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 30, и FR4 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 31; и вариабельную область легкой цепи, содержащую FR1 VL, содержащую

последовательность SEQ ID NO: 32, FR2 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 33, FR3 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 34, и FR4 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую FR1 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 25, FR2 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 26-29, FR3 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 30, и FR4 VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 31; переменную область легкой цепи, содержащую FR1 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 32, FR2 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 33, FR3 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 34, и FR4 VL, содержащую последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблицах 8A-8D), и переменную область легкой цепи, содержащую VL FR1, VL FR2, VL FR3 и VL FR4 из антитела S7AB-H8, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2 (как показано в таблицах 9A-9D).

Активности Siglec-7

Модулированная экспрессия связанных с иммунной системой белков

[00250] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут модулировать экспрессию PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD11b, CD200R, CD163 и/или CD206 после связывания с белком Siglec-7, экспрессируемым в клетке. Модулированная (например, повышенная или пониженная) экспрессия может включать, без ограничения, модуляцию экспрессии гена, модуляцию транскрипционной экспрессии или модуляцию экспрессии белка. Может использоваться любой известный в данной области техники способ определения экспрессии гена, транскрипта (например, мРНК) и/или белка. Например, нозерн-блоттинг может использоваться для определения уровней экспрессии гена противовоспалительного медиатора, ОТ-ПЦР может использоваться для определения уровня транскрипции противовоспалительного

медиатора, а вестерн-блоттинг может использоваться для определения уровней противовоспалительного медиаторного белка.

[00251] В данном контексте PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD11b, CD200R, CD163 и/или CD206 могут иметь модулированную экспрессию, если их экспрессия в одной или более клетках субъекта, получавшего антитела к Siglec-7 по настоящему описанию модулируется (например, увеличивается или уменьшается) по сравнению с экспрессией PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD11b, CD200R, CD163 и/или CD206, экспрессируемых в одной или более клетках соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может модулировать экспрессию PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD11b, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или более клетках субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190% или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с экспрессией PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или более клетках соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию модулирует экспрессию PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD11b, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или более клетках субъекта в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с экспрессией PD-L1, PD-L2, B7-H3, CD11b, CD200R, CD163 и/или CD206 в одной или более клетках соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

[00252] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию полезны для предотвращения, снижения риска появления или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с аномальными уровнями PD-L1, PD-L2, B7-H2, B7-H3, CD11b, CD200R, CD163 и/или CD206, включая, без ограничения, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, болезнь Насу-Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление раны, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную дегенерацию, острый рассеянный

энцефаломиелит, гранулематозное заболевание, саркоидоз, возрастные заболевания, судорожные приступы, травмы спинного мозга, черепно-мозговые травмы, возрастную дегенерацию желтого пятна, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазные инфекции, системные инфекции, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костей, остеопороз, остеогенез, связанное с остеопорозом заболевание, костную болезнь Педжета, и злокачественное новообразование, включая рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие Siglec-7, рак щитовидной железы; инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, инфекцию, вызванную *Trypanosoma*, инфекцию, вызванную *Trypanosoma cruzi*, инфекцию, вызванную *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию, вызванную *Leishmania donovani*, инфекцию, вызванную *Streptococcus* группы В, инфекцию, вызванную *Campylobacter jejuni*, инфекцию, вызванную *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекцию I типа и инфекцию, вызванную *Haemophilus influenzae*.

Повышение или нормализация способности дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток

[00253] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут усиливать и/или нормализовать способность дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток после связывания с белком Siglec-7, экспрессируемым в клетке.

[00254] В некоторых вариантах осуществления изобретения антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут усиливать и/или нормализовать способность дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или на по меньшей мере 200%, например, по сравнению со способностью дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антагонистическое антитело к Siglec-7 может усиливать и/или нормализовать способность дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга субъекта в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере

2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза, или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению со способностью дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в одной или более дендритных клетках костного мозга соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

[00255] В некоторых вариантах осуществления антитела кк Siglec-7 по настоящему описанию полезны для предотвращения, снижения риска появления или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных со сниженной или дисрегулированной способностью дендритных клеток костного мозга индуцировать пролиферацию антигенспецифических Т-клеток, включая, без ограничения, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, болезнь Насу-Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление раны, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозное заболевание, саркоидоз, возрастные заболевания, судорожные приступы, травмы спинного мозга, черепно-мозговые травмы, возрастную дегенерацию желтого пятна, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазные инфекции, системные инфекции, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костей, остеопороз, остеогенез, связанное с остеопорозом заболевание, костную болезнь Педжета, и злокачественное новообразование, включая рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие Siglec-7, рак щитовидной железы, инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, инфекцию, вызванную *Trypanosoma*, инфекцию, вызванную *Trypanosoma cruzi*, инфекцию, вызванную *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию, вызванную *Leishmania donovani*, инфекцию, вызванную *Streptococcus* группы В, инфекцию, вызванную *Campylobacter jejuni*, инфекцию, вызванную *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекцию I типа и инфекцию, вызванную *Haemophilus influenzae*.

Пролиферация и выживаемость клеток, экспрессирующих Siglec-7

[00256] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут увеличивать пролиферацию, выживаемость и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток, Т-хелперов,

цитотоксических Т-клеток и клеток микроглии после связывания с белком Siglec-7, экспрессируемым на клетке.

[00257] Клетки микроглии представляют собой тип глиальных клеток, которые являются резидентными макрофагами головного и спинного мозга и, таким образом, действуют как первая и основная форма активной иммунной защиты в центральной нервной системе (ЦНС). Клетки микроглии составляют 20% от общей популяции глиальных клеток головного мозга. Клетки микроглии постоянно очищают ЦНС от бляшек, поврежденных нейронов и инфекционных агентов. Головной и спинной мозг считаются «иммунологически привилегированными» органами в том смысле, что они отделены от остального тела рядом эндотелиальных клеток, известных как гематоэнцефалический барьер, который не позволяет большинству патогенов достигать уязвимой нервной ткани. В случае, когда инфекционные агенты попадают непосредственно в мозг или пересекают гематоэнцефалический барьер, клетки микроглии должны быстро реагировать, чтобы ограничить воспаление и уничтожить инфекционные агенты, прежде чем они повредят чувствительную нервную ткань. Из-за недоступности антител из остальной части тела (некоторые антитела недостаточно малы, чтобы пересечь гематоэнцефалический барьер) микроглия должна быть способна распознавать инородные тела, поглощать их и действовать как антигенпрезентирующие клетки, активирующие Т-клетки. Поскольку этот процесс должен выполняться быстро, чтобы предотвратить потенциально смертельное повреждение, клетки микроглии чрезвычайно чувствительны даже к небольшим патологическим изменениям в ЦНС. Частично они достигают этой чувствительности благодаря уникальным калиевым каналам, которые отвечают даже на небольшие изменения в уровнях внеклеточного калия.

[00258] В контексте данного документа макрофаги по настоящему описанию включают, без ограничения, макрофаги M1, активированные макрофаги M1 и макрофаги M2. В контексте данного документа клетки микроглии по настоящему описанию включают, без ограничения, клетки микроглии M1, активированные клетки микроглии M1 и клетки микроглии M2.

[00259] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут увеличивать экспрессию CD80, CD83 и/или CD86 на дендритных клетках, моноцитах и/или макрофагах.

[00260] В данном контексте скорость пролиферации, выживаемости и/или функции макрофагов, дендритных клеток, моноцитов, Т-клеток, нейтрофилов и/или микроглии может включать повышенную экспрессию, если скорость пролиферации, выживаемости и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или микроглии у субъекта, получавшего лечение антителом к Siglec-7 по настоящему описанию, превышает скорость пролиферации, выживаемости и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток, нейтрофилов и/или микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему раскрытию может увеличивать скорость пролиферации, выживаемости и/или функции дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у субъекта на по меньшей мере на 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50 %, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100 %, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей

мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190% или на по меньшей мере 200%, например, по сравнению со скоростью пролиферации, выживаемостью и/или функцией дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может увеличивать скорость пролиферации, выживаемость и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у субъекта в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению со скоростью пролиферации, выживаемостью и/или функцией дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

[00261] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию полезны для предотвращения, снижения риска появления или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных со снижением пролиферации, выживаемости, повышенным апоптозом и/или функцией дендритных клеток, нейтрофилов, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера, Т-клеток и/или микроглии, включая, без ограничения, деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, болезнь Насу-Хакола, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, ревматоидный артрит, заживление раны, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ожирение, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, гранулематозное заболевание, саркоидоз, возрастные заболевания, судорожные приступы, травмы спинного мозга, черепно-мозговые травмы, возрастную дегенерацию желтого пятна, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазные инфекции, системные инфекции, волчанку, артрит, рассеянный склероз, низкую плотность костей, остеопороз, остеогенез, связанное с остеопорозом заболевание, костную болезнь Педжета, и злокачественное новообразование, включая рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную

миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие Siglec-7, рак щитовидной железы; инфекции, герпес ЦНС, паразитарные инфекции, инфекцию, вызванную *Trypanosoma*, инфекцию, вызванную *Trypanosoma cruzi*, инфекцию, вызванную *Pseudomonas aeruginosa*, инфекцию, вызванную *Leishmania donovani*, инфекцию, вызванную *Streptococcus* группы В, инфекцию, вызванную *Campylobacter jejuni*, инфекцию, вызванную *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекцию I типа и инфекцию, вызванную *Haemophilus influenzae*.

Siglec-7-зависимая активация иммунных клеток

[00262] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут увеличивать активность цитотоксических Т-клеток, Т-хелперов, или их обоих. В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию полезны для предотвращения, снижения риска появления или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных со сниженной активностью цитотоксических Т-клеток, Т-хелперов, или обоих, включая без ограничения, опухоли, включая солидные опухоли, такие как рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому и рак щитовидной железы.

[00263] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут вызывать увеличение пролиферации, выживаемости, активности и/или количества Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии. В некоторых вариантах осуществления изобретения антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут вызывать увеличение пролиферации, выживаемости, активности и/или количества Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клетки Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии (MDSC).

[00264] В данном контексте скорость пролиферации, выживаемость, активность и/или количество Т-лимфоцитов, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии могут включать повышенную скорость, если скорость пролиферации, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у субъекта, получавшего антитела к Siglec-7 по настоящему описанию, выше, чем скорость пролиферации, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может увеличивать пролиферацию, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по

меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190% или на по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем пролиферации, выживаемости, активности, и/или с количеством Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, например, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у соответствующего субъекта, который не получал лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может увеличивать пролиферацию, выживаемость, активность и/или количество Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у субъекта в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем пролиферации, активности и/или количеством Т-клеток, цитотоксических Т-клеток, CD3⁺ Т-клеток, Т-хелперов, дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, остеокластов, клеток Лангерганса в коже, клеток Купфера и/или клеток микроглии у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

Siglec-7-зависимое ингибирование опухолевых иммунных клеток

[00265] В некоторых вариантах осуществления агонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут снижать активность, уменьшать пролиферацию, снижать выживаемость, снижать функциональность, уменьшать инфильтрацию в опухоли или лимфоидных органах (например, селезенке и лимфатических узлах), количество CD14⁺ миелоидных клеток, снижение скорости роста опухоли, уменьшать объем опухоли, уменьшать или ингибировать дифференцировку, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC), и/или способствовать апоптозу Т-регуляторных клеток или ингибирующих погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клеток, или опухоль-ассоциированных макрофагов, или супрессорных клеток миелоидного происхождения. В некоторых вариантах осуществления агонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию полезны для предотвращения, снижения риска появления или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с активностью одного или более типов иммуносупрессорных клеток, включая, помимо прочего, опухоли, включая солидные опухоли, которые не экспрессируют Siglec-7, такие как рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак

поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, рак щитовидной железы и опухоли крови, экспрессирующие Siglec-7, такие как лейкозные клетки.

[00266] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут уменьшать количество CD14⁺ миелоидных клеток, уменьшать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли или уменьшать или ингибировать дифференцировку, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC).

[00267] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может уменьшать количество CD14⁺ миелоидных клеток, уменьшать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли или уменьшать или ингибировать дифференцировку, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190% или на по меньшей мере 200%, например, по сравнению с количеством CD14⁺ миелоидных клеток, скоростью роста опухоли, объемом опухоли или уровнем дифференцировки, выживаемостью и/или одной или более функциями супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может уменьшать количество CD14⁺ миелоидных клеток, уменьшать скорость роста опухоли, уменьшать объем опухоли или уменьшать или ингибировать дифференцировку, выживаемость и/или одну или более функций супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у субъекта в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с количеством CD14⁺ миелоидных клеток, скоростью роста опухоли, объемом опухоли, или уровнем дифференцировки, выживаемостью и/или одной или более функциями супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) у соответствующего субъекта, который не получает лечение антителом.

Повышенная эффективность терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек

[00268] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут повышать эффективность одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1, или терапевтических средств, нацеленных на один или более из CTLA4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3.

[00269] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может увеличивать эффективность одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, таких как ингибиторы PD-1, или терапевтических средств, нацеленных на один или более из CTLA4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3 у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190% или на по меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1 или терапевтических средств, которые нацелены на один или более из CTLA4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3, у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, которые не получают лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может увеличивать эффективность одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1 или терапевтических средств, нацеленных на один или более из CTLA4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, и/или LAG3 у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, например, ингибиторов PD-1 или терапевтических средств, которые нацелены на один или более из CTLA4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3 и/или LAG3, у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, который не получает лечение антителом.

Повышенная эффективность химиотерапевтических средств

[00270] В некоторых вариантах осуществления антагонистические антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут повышать эффективность одного или более химиотерапевтических агентов, таких как гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубицин (Adriamycin®), эпирубицин (Ellence®), таксаны, паклитаксел (Taxol®), доцетаксел (Taxotere®), 5-фторурацил (5-ФУ), циклофосфамид (Cytoxan®), карбоплатин (Paraplatin®), оксалиплатин (Elotaxin®), лейковорин, темозоломид (Temodar®), ниволумаб,

цетуксимаб, ритуксимаб, конъюгат антитело-лекарственное средство анти-РТК7-Ауристатин (PF-00647020), и/или конъюгат анти-EFNA4-калихемицин.

[00271] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может повышать эффективность одного или более химиотерапевтических агентов у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190% или по на меньшей мере 200%, например, по сравнению с уровнем эффективности одного или более химиотерапевтических агентов у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, который не получает лечение антителом. В других вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может повышать эффективность одного или более химиотерапевтических агентов у субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раза, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раза, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раза, по меньшей мере 8,0 раз, по меньшей мере 8,5 раза, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раза или в по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с уровнем эффективность одного или более химиотерапевтических агентов у соответствующего субъекта, получающего такое одно или более терапевтических средств, которые не получают лечение антителом.

Получение антител

[00272] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут включать поликлональные антитела, моноклональные антитела, гуманизированные и химерные антитела, человеческие антитела, фрагменты антител (например, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, и F(ab')₂), биспецифические и полиспецифические антитела, поливалентные антитела, гетероконъюгатные антитела, конъюгированные антитела, антитела, полученные из библиотеки, антитела с модифицированными эффекторными функциями, слитые белки, содержащие часть антитела, и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит сайт распознавания антигена, такой как эпитоп, содержащий аминокислотные остатки белка Siglec-7 по настоящему описанию, включая варианты гликозилирования антител, варианты аминокислотных последовательностей антител и ковалентно модифицированные антитела. Антитела к Siglec-7 могут быть человеческого, мышиного, крысиного или любого другого происхождения (включая химерные или гуманизированные антитела).

(1) *Поликлональные антитела*

[00273] Поликлональные антитела, такие как поликлональные антитела к Siglec-7, как правило, вырабатываются у животных путем множественных подкожных (п/к) или внутрибрюшинных (в/б) инъекций соответствующего антигена и адъюванта. Может быть полезно конъюгировать соответствующий антиген (например, очищенный или рекомбинантный белок Siglec-7 по настоящему описанию) с белком, который является иммуногенным для видов, подлежащих иммунизации, например, гемоцианином моллюска *Megathura crenulata* (KLH), сывороточным альбумином, бычьим тиреоглобулином или ингибитором трипсина сои с использованием бифункционального или дериватизирующего агента, например, сложного эфира малеимидобензоилсульфосукцинимид (конъюгация через остатки цистеина), N-гидроксисукцинимид (через остатки лизина), глутаральдегида, ангидрида янтарной кислоты, SOCl_2 , или $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$, где R и R^1 независимо представляют собой низшие алкильные группы. Примеры адъювантов, которые можно использовать, включают полный адъювант Фрейнда и адъювант MPL-TDM (монофосфорилилипид А, синтетический дикориномиколат трегалозы). Специалист в данной области техники сможет выбрать протокол иммунизации без проведения необязательных экспериментов.

[00274] Животных иммунизируют против желаемого антигена, иммуногенных конъюгатов или производных путем объединения, например, 100 мкг (для кроликов) или 5 мкг (для мышей) белка или конъюгата с 3 объемами полного адъюванта Фрейнда и внутрикожной инъекции раствора в несколько местах. Через месяц животным вводят от 1/5 до 1/10 исходного количества пептида или конъюгата в полном адъюванте Фрейнда путем подкожной инъекции в несколько мест. Через семь-четырнадцать дней у животных берут кровь и анализируют сыворотку на титр антител. Животным делают бустерные инъекции до достижения плато титра. Конъюгаты также могут быть получены в культуре рекомбинантных клеток в виде слитых белков. Также агенты, вызывающие агрегацию, такие как квасцы, подходят для усиления иммунного ответа.

(2) *Моноклональные антитела*

[00275] Моноклональные антитела, такие как моноклональные антитела к Siglec-7, получают из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Таким образом, определение «моноклональное» указывает на то, что антитело не представляет собой смесь отдельных антител.

[00276] Например, моноклональные антитела к Siglec-7 могут быть получены с использованием гибридного способа, впервые описанного Kohler *et al.*, *Nature*, 256:495 (1975), или могут быть получены способами рекомбинантной ДНК (патент США № 4816567).

[00277] В гибридном способе мышь или другое подходящее животное-хозяин, такое как хомяк, иммунизируют, как описано выше, для получения лимфоцитов, которые продуцируют или способны продуцировать антитела, которые будут специфически связываться с белком, используемым для иммунизации (например, с очищенным или рекомбинантным белком Siglec-7 по настоящему описанию). В альтернативном варианте лимфоциты можно иммунизировать *in vitro*. Затем лимфоциты сливаются с клетками миеломы с использованием подходящего агента для слияния, такого как полиэтиленгликоль, с образованием гибридной клетки (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)).

[00278] Иммунизирующий агент, как правило, будет включать антигенный белок (например, очищенный или рекомбинантный белок Siglec-7 по настоящему описанию) или его гибридный вариант. В целом, лимфоциты периферической крови («PBL») используются, если желательны клетки человеческого происхождения, в то время как клетки селезенки или лимфатических узлов используются, если желательны источники клеток отличных от человека млекопитающих. Затем лимфоциты сливаются с иммортализованной клеточной линией с использованием подходящего агента для слияния, такого как полиэтиленгликоль, с образованием гибридной клетки. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59-103.

[00279] Иммортализованные клеточные линии, как правило, представляют собой трансформированные клетки млекопитающих, особенно клетки миеломы грызунов, крупного рогатого скота или человека. Обычно используют клеточные линии миеломы крысы или мыши. Полученные таким образом гибридные клетки высевают и выращивают в подходящей культуральной среде, которая предпочтительно содержит одно или более веществ, которые ингибируют рост или выживаемость неслитых, исходных клеток миеломы. Например, если в исходных клетках миеломы отсутствует фермент гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), культуральная среда для гибридом, как правило, содержит гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), которые по существу препятствуют росту клеток с дефицитом HGPRT.

[00280] Предпочтительными иммортализованными клетками миеломы являются те, которые эффективно сливаются, поддерживают стабильную продукцию антител на высоком уровне выбранными продуцирующими антитела клетками и чувствительны к среде, такой как среда HAT. Среди них предпочтительными являются линии миеломы мышей, такие как линии, полученные из опухолей мышей МОРС-21 и МРС-11 (доступные из Центра распределения клеток Института Солка, Сан-Диего, Калифорния, США), а также клетки SP-2 и их производные (например, X63-Ag8-653) (доступны из Американской коллекции типовых культур, Манассас, Вирджиния, США). Клеточные линии миеломы человека и гетеромиеломы человека и мыши также были описаны как пригодные для получения человеческих моноклональных антител (Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

[00281] Культуральную среду, в которой культивируют гибридные клетки, анализируют на наличие моноклональных антител, направленных против желаемого антигена (например, белка Siglec-7 по настоящему описанию). Предпочтительно аффинность связывания и специфичность моноклонального антитела можно определять при помощи иммунопреципитации или при помощи анализа связывания *in vitro*, такого как радиоиммуноанализ (РИА) или твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Такие методики и анализы известны в данной области техники. Например, аффинность связывания может быть определена в анализе Скэтчарда, описанного в Munson *et al.*, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980).

[00282] После идентификации гибридных клеток, которые продуцируют антитела желаемой специфичности, аффинности и/или активности, клоны можно субклонировать с помощью процедур предельного разведения и выращивать стандартными способами (Goding, см. выше). Подходящие для этих целей культуральные среды включают, например среду, D-MEM или RPMI-1640. Кроме того, гибридные клетки можно выращивать *in vivo* как опухоли у млекопитающего.

[00283] Моноклональные антитела, секретируемые субклонами, удобно отделять от культуральной среды, асцитной жидкости или сыворотки с помощью традиционных процедур очистки иммуноглобулинов, таких

как, например, хроматография с применением протеина А-сефарозы, хроматография с гидроксипатитом, гель-электрофорез, диализ, аффинная хроматография, и другие способы, как описано выше.

[00284] Моноклональные антитела к Siglec-7 также могут быть получены способами рекомбинантной ДНК, такими как описанные в патенте США № 4816567 и описанные выше. ДНК, кодирующая моноклональные антитела, легко выделяется и секвенируется с использованием стандартных процедур (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые специфически связываются с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи мышиных антител). Гибридомные клетки служат в качестве предпочтительного источника такой ДНК. После выделения ДНК может быть помещена в векторы экспрессии, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, обезьяньи клетки COS, клетки яичника китайского хомячка (СНО) или клетки миеломы, которые иначе не продуцируют белок иммуноглобулина, чтобы осуществить синтез моноклональных антител в таких рекомбинантных клетках-хозяевах. Статьи с обзорами рекомбинантной экспрессии в бактериях ДНК, кодирующей антитело, включают Skerra *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 5:256-262 (1993) and Plückthun, *Immunol. Rev.* 130:151-188 (1992).

[00285] В некоторых вариантах осуществления антитела против Siglec-7 можно выделить из фаговых библиотек антител, полученных с использованием методик, описанных в McCafferty *et al.*, *Nature*, 348:552-554 (1990). Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991) и Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) описали выделение антител мыши и человека, соответственно, из фаговых библиотек. Последующие публикации описывают получение антител человека с высокой аффинностью (наномолярный («нМ») диапазон) путем перетасовки цепей (Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992)), а также комбинаторной инфекции и рекомбинации *in vivo* в виде стратегии построения очень больших фаговых библиотек (Waterhouse *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 21:2265-2266 (1993)). Таким образом, эти методы являются жизнеспособными альтернативами традиционным гибридным методам для выделения моноклональных антител желаемой специфичности (например, тех, которые связывают белок Siglec-7 по настоящему описанию).

[00286] ДНК, кодирующую антитела или их фрагменты, также можно модифицировать, например, путем замены кодирующей последовательности гомологичных мышиных последовательностей на константные домены тяжелой и легкой цепей человека (патент США № 4816567; Morrison, *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)), или путем ковалентного присоединения к кодирующей последовательности иммуноглобулина всей или части кодирующей последовательности полипептида, не являющегося иммуноглобулином. Как правило, такие полипептиды, не являющиеся иммуноглобулином, заменяют на константные домены антитела, или их заменяют на переменные домены одного антигенсвязывающего сайта антитела, чтобы получить химерное двухвалентное антитело, содержащее один антигенсвязывающий сайт, имеющий специфичность к антигену, и другой антигенсвязывающий сайт, имеющий специфичность к другому антигену.

[00287] Описанные в данном документе моноклональные антитела (например, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию или их фрагменты) могут быть моновалентными, получение которых хорошо известно в данной области техники. Например, один способ включает рекомбинантную экспрессию легкой цепи иммуноглобулина и модифицированной тяжелой цепи. Тяжелая цепь, как правило, усечена в любой точке Fc-области, чтобы предотвратить ее сшивание. Альтернативно, соответствующие остатки цистеина могут быть заменены другим аминокислотным остатком или удалены, чтобы предотвратить сшивание. *In vitro* способы также подходят для получения моновалентных антител. Расщепление антител для получения

их фрагментов, особенно фрагментов Fab, может быть выполнено с использованием стандартных способов, известных в данной области техники.

[00288] Химерные или гибридные антитела к Siglec-7 также могут быть получены *in vitro* с использованием способов, известных в химии синтетических белков, включая способы, включающие сшивающие агенты. Например, иммунотоксины могут быть сконструированы с использованием реакции дисульфидного обмена или путем образования тиоэфирной связи. Примеры подходящих реагентов для этой цели включают иминотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат.

(3) Гуманизированные антитела

[00289] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию или их фрагменты антител могут дополнительно включать гуманизированные или человеческие антитела. Гуманизированные формы антител нечеловеческого происхождения (например, мышиные) представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие последовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина нечеловеческого происхождения. Гуманизированные антитела включают человеческие иммуноглобулины (антитело-реципиент), в которых остатки из определяющей комплементарности области (CDR) реципиента заменены остатками из CDR нечеловеческого вида (антитело-донор), такого как мышь, крыса или кролик, имеющего желаемый специфичность, аффинность и активность. В некоторых случаях остатки каркасной области Fv иммуноглобулина человека заменяют соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Гуманизированные антитела могут также содержать остатки, которых нет ни в антителе-реципиенте, ни в импортированной CDR или каркасных последовательностях. В общем, гуманизированное антитело может содержать по существу все из по меньшей мере одного и, как правило, двух переменных 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 иммуноглобулина человека. Оптимально гуманизированное антитело также будет содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. Jones *et al.*, *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332: 323-329 (1988) и Presta, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2: 593-596 (1992).

[00290] Способы гуманизации нечеловеческих антител хорошо известны в данной области техники. Как правило, гуманизированное антитело имеет один или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, не относящегося к человеку. Эти нечеловеческие аминокислотные остатки часто называются «импортными» остатками, которые, как правило, взяты из «импортного» переменного домена. Гуманизацию можно по существу провести по методу Винтера с сотрудниками, Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven *et al.*, *Science* 239:1534-1536 (1988), или путем замены CDR или последовательностей CDR грызунов на соответствующие последовательности антитела человека. Соответственно, такими гуманизированными антителами являются химерные антитела (патент США № 4816567), в которых существенно меньшая часть, чем интактный человеческий переменный домен, была замещена соответствующей последовательностью из нечеловеческого вида. На практике гуманизированные антитела обычно представляют собой антитела человека, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR замещены остатками из аналогичных сайтов в антителах грызунов.

[00291] Выбор переменных доменов человека, как легких, так и тяжелых, для использования при получении гуманизированных антител очень важен для снижения антигенности. Согласно так называемому методу «наилучшего соответствия» проводится скрининг последовательности переменного домена антитела грызуна по всей библиотеке известных человеческих последовательностей переменного домена. Человеческая последовательность, которая наиболее близка к последовательности грызуна, затем принимается за человеческую каркасную область (FR) для гуманизированного антитела. Sims *et al.*, *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987). В другом методе используют конкретную каркасную область, полученную из консенсусной последовательности всех человеческих антител конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Аналогичную каркасную область можно использовать для нескольких различных гуманизированных антител. Carter *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); Presta *et al.*, *J. Immunol.* 151:2623 (1993).

[00292] Кроме того, важно, чтобы антитела были гуманизированы с сохранением высокой аффинности к антигену и других благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели в соответствии с предпочтительным способом гуманизированные антитела получают путем анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с использованием трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов общедоступны и знакомы специалистам в данной области техники. Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и отображают возможные трехмерные конформационные структуры выбранных последовательностей иммуноглобулинов-кандидатов. Изучение этих изображений позволяет анализировать вероятную роль остатков в функционировании последовательности иммуноглобулина-кандидата, например, анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина-кандидата связывать его антиген. Таким образом, остатки FR могут быть выбраны и скомбинированы из реципиентной и импортируемой последовательностей, так что достигается желаемая характеристика антитела, такая как повышенная аффинность к целевому антигену или антигенам (например, белкам Siglec-7 по настоящему описанию). В целом, остатки CDR непосредственно и в существенной степени вовлечены в связывание антигена.

[00293] Предусмотрены различные формы гуманизированного антитела к Siglec-7. Например, гуманизированное антитело к Siglec-7 может представлять собой фрагмент антитела, такой как Fab, который необязательно конъюгирован с одним или более цитотоксическим агентом(-ами) для получения иммуноконъюгата. Альтернативно, гуманизированное антитело к Siglec-7 может быть интактным антителом, таким как интактное антитело IgG1.

(4) Фрагменты антител

[00294] В некоторых вариантах осуществления имеются преимущества использования фрагментов антител к Siglec-7, а не полных антител к Siglec-7. Меньшие размеры фрагментов обеспечивают быстрый клиренс и лучшее проникновение в мозг.

[00295] Были разработаны различные способы для получения фрагментов антител. Традиционно данные фрагменты были получены путем протеолитического расщепления интактных антител (см., например, Morimoto *et al.*, *J. Biochem. Biophys. Method.* 24:107-117 (1992); и Brennan *et al.*, *Science* 229:81 (1985)). Однако эти фрагменты теперь могут быть продуцированы непосредственно рекомбинантными клетками-хозяевами, например, с использованием нуклеиновых кислот, кодирующих антитела к Siglec-7 по настоящему описанию. Все из фрагментов Fab, Fv и scFv антител могут экспрессироваться в *E. coli* и

секретироваться из них, обеспечивая, таким образом, легкое получение больших количеств этих фрагментов. Фрагменты антител к Siglec-7 также можно выделить из фаговых библиотек антител, как обсуждалось выше. Альтернативно, фрагменты Fab'-SH можно непосредственно выделять из *E. coli* и химически связывать с образованием фрагментов F(ab')₂ (Carter *et al.*, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)). В соответствии с другим подходом фрагменты F(ab')₂ можно выделять непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев. Получение фрагментов антител Fab и F(ab')₂ с увеличенным временем полужизни *in vivo* описано в патенте США № 5869046. В других вариантах осуществления выбранное антитело представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (scFv). См. WO 93/16185; патент США № 5571894 и патент США № 5587458. Фрагмент антитела к Siglec-7 также может представлять собой «линейное антитело», например, как описано в патенте США № 5641870. Такие линейные фрагменты антител могут быть моноспецифическими или биспецифическими.

(5) Биспецифические и полиспецифические антитела

[00296] Биспецифические антитела (бсАт) представляют собой антитела, которые имеют специфичность связывания с по меньшей мере двумя разными эпитопами, включая эпитопы на том же или другом белке (например, одном или более белках Siglec-7 по настоящему описанию). Альтернативно, одна часть бсАт может быть с плечом для связывания с целевым антигеном Siglec-7, а другая может быть объединена с плечом, которое связывается со вторым белком. Такие антитела могут быть получены из полноразмерных антител или фрагментов антител (например, F(ab')₂ биспецифических антител).

[00297] Способы получения биспецифических антител известны в данной области техники. Традиционное получение полноразмерных биспецифических антител основано на коэкспрессии двух пар тяжелая цепь/легкая цепь иммуноглобулина, где две цепи имеют разные специфичности. Millstein *et al.*, *Nature*, 305:537-539 (1983). Из-за случайного распределения тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина эти гибридомы (квадромы) продуцируют потенциальную смесь 10 различных молекул антител, из которых только одна имеет правильную биспецифическую структуру. Очистка нужной молекулы, которую, как правило, проводят с помощью аффинной хроматографии, довольно обременительна, а выход продукта низок. Подобные процедуры описаны в WO 93/08829 и в Traunecker *et al.*, *EMBO J.*, 10:3655-3659 (1991).

[00298] Согласно другому подходу переменные домены антител с желаемой специфичностью связывания (сайты связывания антитело-антиген) сливают с последовательностями константных доменов иммуноглобулина. Слияние предпочтительно происходит с константным доменом тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащим по меньшей мере часть шарнирной области, области C_H2, и C_H3. Предпочтительно, чтобы первая константная область тяжелой цепи (C_H1), содержащая сайт, необходимый для связывания легкой цепи, присутствовала по меньшей мере в одном из гибридов. ДНК, кодирующие гибриды тяжелой цепи иммуноглобулина и, если желательно, легкую цепь иммуноглобулина, вставляют в отдельные векторы экспрессии и совместно трансфицируют в подходящий организм-хозяин. Это обеспечивает большую гибкость в регулировании взаимных пропорций трех полипептидных фрагментов в вариантах осуществления, когда неравные соотношения трех полипептидных цепей, используемых в конструкции, обеспечивают оптимальные выходы. Однако можно вставить кодирующие последовательности для двух или всех трех полипептидных цепей в один вектор экспрессии, когда экспрессия по меньшей мере двух полипептидных цепей в равных соотношениях приводит к высоким выходам или когда соотношения не имеют особого значения.

[00299] В предпочтительном варианте осуществления этого подхода биспецифические антитела состоят из гибридной тяжелой цепи иммуноглобулина с первой специфичностью связывания в одном плече и гибридной пары тяжелая цепь-легкая цепь иммуноглобулина (обеспечивающей вторую специфичность связывания) в другом плече. Было обнаружено, что эта асимметричная структура облегчает отделение желаемого биспецифического соединения от нежелательных комбинаций цепей иммуноглобулина, поскольку присутствие легкой цепи иммуноглобулина только в половине биспецифических молекул обеспечивает простой способ разделения. Этот подход описан в WO 94/04690. Для получения дополнительных сведений о создании биспецифических антител см., например, Suresh *et al.*, *Methods in Enzymology* 121: 210 (1986).

[00300] Согласно другому подходу, описанному в WO 96/27011 или патенте США № 5731168, поверхность взаимодействия между парой молекул антител может быть сконструирована так, чтобы максимально увеличить процент гетеродимеров, выделяемых из культуры рекомбинантных клеток. Предпочтительная поверхность взаимодействия содержит по меньшей мере часть области C_H3 константного домена антитела. В этом способе одна или более боковых цепей аминокислот на поверхности взаимодействия первой молекулы антитела заменяются более крупными боковыми цепями (например, тирозином или триптофаном). Компенсирующие «полости» идентичного или сходного размера с большой боковой цепью(-ями) создаются на границе раздела второй молекулы антитела путем замены больших боковых цепей аминокислот на более мелкие (например, аланин или треонин). Это обеспечивает механизм увеличения выхода гетеродимера по сравнению с другими нежелательными конечными продуктами, такими как гомодимеры.

[00301] Способы получения биспецифических антител из фрагментов антител описаны в литературе. Например, биспецифические антитела можно получить с использованием химического связывания. Brennan *et al.*, *Science* 229:81 (1985) описывают процедуру, при которой интактные антитела протеолитически расщепляются с образованием фрагментов F(ab')₂. Эти фрагменты восстанавливаются в присутствии натрия арсенита, образующего комплекс с дитиолом, для стабилизации вицинальных дитиолов и предотвращения образования межмолекулярных дисульфидов. Затем полученные фрагменты Fab' превращают в производные тионитробензоата (TNB). Затем одно из производных Fab'-TNB снова превращают в производное Fab'-TNB с образованием биспецифического антитела. Полученные биспецифические антитела можно использовать в качестве агентов для селективной иммобилизации ферментов.

[00302] Фрагменты Fab' могут быть непосредственно выделены из *E. coli* и химически связаны с образованием биспецифических антител. Shalaby *et al.*, *J. Exp. Med.* 175: 217-225 (1992) описывает получение молекул F(ab')₂ полностью гуманизированного биспецифического антитела. Каждый фрагмент Fab' отдельно секретировался из *E. coli* и подвергался направленному химическому связыванию *in vitro* с образованием биспецифического антитела. Образованное таким образом биспецифическое антитело было способно связываться с клетками, сверхэкспрессирующими рецептор ErbB2, и нормальными Т-клетками человека, а также запускать литическую активность цитотоксических лимфоцитов человека против опухолей молочной железы человека.

[00303] Также были описаны различные способы получения и выделения фрагментов двухвалентных антител непосредственно из культуры рекомбинантных клеток. Например, двухвалентные гетеродимеры были получены с использованием лейциновых молний. Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992).

Пептиды типа лейциновой молнии из белков Fos и Jun были связаны с Fab' частями двух различных антител путем слияния генов. Гомодимеры антител восстанавливались в шарнирной области с образованием мономеров, а затем повторно окислялись с образованием гетеродимеров антител. Технология «диатела», описанная в Hollinger *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993), обеспечила альтернативный механизм получения фрагментов биспецифических/двухвалентных антител. Фрагменты содержат переменный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с переменным доменом легкой цепи (V_L) с помощью линкера, который является слишком коротким, чтобы позволить объединение двух доменов в одной цепи. Соответственно, домены V_H и V_L одного фрагмента вынуждены объединяться с комплементарными доменами V_L и V_H другого фрагмента, тем самым образуя два антигенсвязывающих сайта. Сообщалось о другой стратегии получения фрагментов биспецифических/двухвалентных антител путем использования димеров из одноцепочечных Fv (sFv). См. Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994).

[00304] Также рассматриваются антитела с более чем двумя валентностями. Например, могут быть получены триспецифические антитела. Tutt *et al.*, *J. Immunol.* 147:60 (1991).

[00305] Иллюстративные биспецифические антитела могут связываться с двумя разными эпитопами данной молекулы (например, белка Siglec-7 по настоящему описанию). Альтернативно, плечо, нацеленное на сигнальный компонент Siglec-7, может быть объединено с плечом, которое связывается с триггерной молекулой на лейкоците, такой как молекула Т-клеточного рецептора (например, CD2, CD3, CD28 или B7) или Fc-рецепторов для IgG (FcγR), такой как FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16), чтобы направить клеточные защитные механизмы на клетку, экспрессирующую конкретный белок. Биспецифические антитела также могут использоваться для локализации цитотоксических агентов в клетках, которые экспрессируют конкретный белок. Такие антитела имеют плечо, связывающее белок, и плечо, которое связывает цитотоксический агент или хелатор радионуклидов, такой как EOTUBE, DPTA, DOTA или TETA. Другое представляющее интерес биспецифическое антитело связывает представляющий интерес белок и дополнительно связывает тканевой фактор (ТФ).

(6) Поливалентные антитела

[00306] Поливалентное антитело может быть интернализировано (и/или катаболизировано) клеткой, экспрессирующей антиген, с которым связываются антитела, быстрее, чем бивалентное антитело. Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию или их фрагменты могут быть поливалентными антителами (которые не относятся к классу IgM) с тремя или более сайтами связывания антигена (например, четырехвалентными антителами), которые могут быть легко получены при помощи экспрессии рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи антитела. Поливалентное антитело может содержать домен димеризации и три или более антигенсвязывающих сайтов. Предпочтительный домен димеризации содержит Fc-область или шарнирную область. В этом случае антитело будет содержать Fc-область и три или более антигенсвязывающих сайтов, расположенных со стороны N-конца к Fc-области. Предпочтительное поливалентное антитело в данном документе содержит от трех до около восьми, но предпочтительно четыре антигенсвязывающих сайта. Поливалентное антитело содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (и предпочтительно две полипептидные цепи), причем полипептидная цепь или цепи содержат два или более переменных домена. Например, полипептидная цепь или цепи могут содержать VD1-(X1)n-VD2-(X2)n-Fc, где VD1 представляет собой первый переменный домен, VD2 представляет собой второй переменный домен, Fc представляет собой одну полипептидную цепь Fc-области, X1 и X2 представляют собой аминокислоту или полипептид, и n равен 0 или 1. Подобным образом полипептидная цепь или цепи

могут содержать цепь V_H - C_{H1} -гибкий линкер- V_H - C_{H1} -Fc-область; или цепь V_H - C_{H1} - V_H - C_{H1} -Fc-область. Поливалентное антитело в данном документе предпочтительно дополнительно содержит по меньшей мере два (а предпочтительно четыре) полипептида переменного домена легкой цепи. Поливалентное антитело в данном документе может, например, содержать от около двух до около восьми полипептидов переменного домена легкой цепи. Рассматриваемые в данном документе полипептиды переменного домена легкой цепи содержат переменный домен легкой цепи и, необязательно дополнительно содержат домен CL. Мультивалентные антитела могут распознавать антиген Siglec-7, а также, без ограничения, дополнительные антигены: амилоидный бета-пептид-антиген или белок-антиген альфа-синуклеин, или Тау-белок-антиген, или белок-антиген TDP-43, или прионный белок-антиген, или белок-антиген хантингтин, или, продукты-антигены RAN-трансляции, включая дипептидные повторы, (пептиды DPR), состоящие из глицин-аланина (GA), глицин-пролина (GP), глицин-аргинина (GR), пролин-аланина (PA) или пролин-аргинина (PR), инсулиновый рецептор, рецептор инсулиноподобного фактора роста, трансферриновый рецептор или любой другой антиген, который облегчает перенос антител через гематоэнцефалический барьер.

(7) Гетероконъюгатные антитела

[00307] Гетероконъюгатные антитела также входят в объем настоящего описания. Гетероконъюгатные антитела состоят из двух ковалентно связанных антител (например, антител к Siglec-7 по настоящему описанию или их фрагментов). Например, одно из антител в гетероконъюгате может быть связано с авидином, другое - с биотином. Такие антитела были, например, предложены для нацеливания клеток иммунной системы на нежелательные клетки, патент США № 4676980, и были использованы для лечения ВИЧ-инфекции. Международные публикации WO 91/00360, WO 92/200373 и EP 0308936. Предполагается, что антитела могут быть получены *in vitro* с использованием способов, известных в химии синтетических белков, включая способы, включающие сшивающие агенты. Например, иммуотоксины могут быть сконструированы с использованием реакции дисульфидного обмена или путем образования тиоэфирной связи. Примеры подходящих реагентов для этой цели включают иминотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат, а также те, что описаны, например, в патенте США № 4676980. Гетероконъюгатные антитела можно получить с использованием любых удобных способов сшивания. Подходящие сшивающие агенты хорошо известны в данной области техники и описаны в патенте США № 4676980 вместе с рядом методик сшивания.

(8) Модификация эффекторной функции

[00308] Также может быть желательно модифицировать антитело к Siglec-7 по настоящему описанию для модификации эффекторной функции и/или увеличения времени полужизни антитела в сыворотке. Например, сайт связывания Fc-рецептора в константной области может быть модифицирован или мутирован для удаления или уменьшения аффинности связывания с некоторыми Fc-рецепторами, такими как FcγRI, FcγRII, и/или FcγRIII. В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция нарушается при удалении N-гликозилирования Fc-области (например, в домене CH2 IgG) антитела. В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция нарушается путем модификации областей, таких как 233-236, 297 и/или 327-331 IgG человека, как описано в PCT WO 99/58572 и Armour *et al.*, *Molecular Immunology* 40: 585-593 (2003); Reddy *et al.*, *J. Immunology* 164:1925-1933 (2000).

[00309] Для увеличения времени полужизни антитела в сыворотке можно включить в антитело (особенно во фрагмент антитела) связывающий рецептор реутилизации эпитоп, как описано, например, в патенте США 5739277. Используемый в данном документе термин «*эпитоп, связывающий рецептор реутилизации*»

относится к эпитопу Fc-области молекулы IgG (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, или IgG₄), который отвечает за увеличение *in vivo* времени полужизни в сыворотке молекула IgG.

(9) *Другие модификации аминокислотной последовательности*

[00310] Также рассматриваются модификации аминокислотной последовательности антител к Siglec-7 по настоящему описанию или их фрагментов. Например, может быть желательно улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства антител или фрагментов антител. Варианты аминокислотной последовательности антител или фрагментов антител получают путем внесения соответствующих нуклеотидных изменений в нуклеиновую кислоту, кодирующую антитела или фрагменты антител, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Любая комбинация делеции, вставки и замены делается для получения конечной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками (то есть способностью связываться или физически взаимодействовать с белком Siglec-7 по настоящему описанию). Изменения аминокислот также могут изменять посттрансляционные процессы в антителе, такие как изменение числа или положения сайтов гликозилирования.

[00311] Полезный способ идентификации определенных остатков или областей антитела к Siglec-7, которые являются предпочтительными местами для мутагенеза, называется «аланин-сканирующим мутагенезом», как описано Cunningham и Wells в *Science*, 244:1081-1085 (1989). В данном документе идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней (например, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) и заменяют нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином), чтобы повлиять на взаимодействие аминокислот с антигеном-мишенью. Те положения аминокислот, которые демонстрируют функциональную чувствительность к замещениям, затем уточняют введением дополнительных или других вариантов на сайтах замещения или около них. Таким образом, хотя сайт для введения вариации аминокислотной последовательности предопределен, природа мутации как таковая не должна быть предопределена. Например, для анализа эффективности мутации в данном сайте проводится аланиновое сканирование или случайный мутагенез в целевом кодоне или области, а экспрессируемые варианты антител подвергают скринингу в отношении желаемой активности.

[00312] Вставки аминокислотной последовательности включают амино- («N») и/или карбокси- («C») концевые гибриды, имеющие длину в диапазоне от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или более аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком или антитело, слитое с цитотоксическим полипептидом. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом или полипептидом, что увеличивает время полужизни антитела в сыворотке.

[00313] Другой тип варианта представляет собой вариант с заменой аминокислот. В этих вариантах по меньшей мере один аминокислотный остаток в молекуле антитела заменен другим остатком. Сайты, представляющие наибольший интерес для замещающего мутагенеза, включают гипервариабельные области, но также рассматриваются изменения FR. Консервативные замены показаны в **таблице D** ниже под заголовком «предпочтительные замены». Если такие замены приводят к изменению биологической активности, то могут быть введены более существенные изменения, обозначенные в **таблице D** как

«иллюстративные замены», или как дополнительно описано в отношении классов аминокислот, а продукты могут быть подвергнуты скринингу.

Таблица D. Аминокислотные замены

Исходный остаток	Иллюстративные замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; asp; lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; норлейцин	leu
Leu (L)	норлейцин; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; норлейцин	leu

[00314] Существенные модификации биологических свойств антитела осуществляют путем выбора замен, которые существенно отличаются по своему влиянию на сохранение (а) структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде складчатой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (с) объема боковой цепи. Естественным образом встречающиеся в природе остатки возможно разделить на группы, основанные на общих свойствах боковой цепи:

- (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr;
- (3) кислые: asp, glu;
- (4) основные: asn, gln, his, lys, arg;
- (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и
- (6) ароматические: trp, tyr, phe.

[00315] Неконсервативные замены подразумевают замену представителя одного из этих классов представителем другого класса.

[00316] Любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании надлежащей конформации антитела, также может быть заменен, как правило, серином, для улучшения устойчивости молекулы к окислению и

предотвращения aberrантного сшивания. И наоборот, цистеиновая связь(-и) может быть добавлена к антителу для улучшения его стабильности (в частности, когда антитело является фрагментом антитела, таким как фрагмент Fv).

[00317] Особенно предпочтительный тип варианта с заменой содержит замену одного или более остатков гипервариабельной области исходного антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела к Siglec-7). Как правило, полученный вариант(-ы), выбранный для дальнейшей разработки, будет иметь улучшенные биологические свойства относительно исходного антитела, из которого он образуется. Удобный способ генерации таких вариантов замещения включает созревание аффинности с использованием фагового дисплея. Вкратце, несколько сайтов гипервариабельной области (например, 6-7 сайтов) подвергаются мутации для получения всех возможных аминокислотных замен в каждом сайте. Полученные таким образом варианты антител подвергаются дисплею одновалентным способом из филаментных фаговых частиц в виде слияний с продуктом гена III M13, упакованным в каждую частицу. Подвергнутые фаговому дисплею варианты затем подвергаются скринингу для оценки биологической активности (например, аффинности связывания) в соответствии с приведенным в данном документе описанием. Чтобы идентифицировать потенциальные сайты гипервариабельных областей для модификации может быть выполнен аланин-сканирующий мутагенез для идентификации остатков гипервариабельной области, значительно способствующих связыванию антигена. Альтернативно или дополнительно может быть полезно проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для определения точек контакта между антителом и антигеном (например, белком Siglec-7 по настоящему описанию). Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами на замену в соответствии со способами, разработанными в данном документе. Когда такие варианты получены, панель вариантов подвергается скринингу, в соответствии с описанием, предоставленным в данном документе, и антитела с превышающими прочие свойствами в одном или более соответствующих анализах могут быть выбраны для дальнейшей разработки.

[00318] Другой тип аминокислотного варианта антитела изменяет исходный профиль гликозилирования антитела. Под изменением подразумевается делеция одного или более углеводных фрагментов, обнаруженных в антителе, и/или добавление одного или более сайтов гликозилирования, которые не представлены в антителе.

[00319] Гликозилирование антител, как правило, является N-связанным или O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, являются последовательностями распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикамнокислоте, чаще всего серину или треонину, хотя также могут быть использованы 5-гидроксипролин или 5-гидроксизимин.

[00320] Добавление сайтов гликозилирования к антителу, как правило, осуществляют путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или более описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Изменение может также

быть выполнено путем добавления одного или более остатков серина или треонина в последовательность исходного антитела или замещения ими (для сайтов О-связанного гликозилирования).

[00321] Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие варианты аминокислотной последовательности антитела к IgE, получают с помощью множества способов, известных в данной области техники. Эти способы включают, но не ограничиваются ими, выделение из природного источника (в случае встречающихся в природе вариантов аминокислотной последовательности) или получение с помощью олигонуклеотид-опосредованного (или сайт-специфического) мутагенеза, ПЦР-мутагенеза и кассетного мутагенеза ранее полученного варианта или невариантной версии антител (например, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию) или фрагментов антител.

(10) Конъюгаты антитела

[00322] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию или их фрагменты могут быть конъюгированы с детектируемым маркером, токсином или терапевтическим агентом. Можно использовать любой подходящий способ, известный в данной области техники, для конъюгирования молекул, таких как детектируемый маркер, токсин или терапевтический агент, с антителами.

[00323] Например, конъюгация лекарственного средства включает связывание биологически активной цитотоксической (противоопухолевой) полезной нагрузки или лекарственного средства с антителом, которое специфически нацелено на определенный опухолевый маркер (например, белок, который в идеале должен находиться только в опухолевых клетках или на них). Антитела отслеживают эти белки в организме и прикрепляются к поверхности раковых клеток. Биохимическая реакция между антителом и белком-мишенью (антигеном) запускает сигнал в опухолевой клетке, которая затем поглощает или интернализует антитело вместе с цитотоксином. После того, как ADC интернализируется, цитотоксическое лекарственное средство высвобождается и уничтожает раковую клетку. Благодаря такому нацеливанию, в идеале лекарственное средство имеет меньше побочных эффектов и дает более широкое терапевтическое окно, чем другие химиотерапевтические агенты. Описанные способы конъюгирования антител известны в данной области техники (см., например, Jane de Lartigue, OncoLive July 5, 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; и Ducry *et al.*, (2010). *Bioconjugate Chemistry* 21 (1): 5–13).

[00324] В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 по настоящему описанию может быть конъюгировано с токсином, выбранным из рицина, А-цепи рицина, доксорубина, даунорубина, майтанзиноида, таксола, бромистого этидия, митомицина, этопозиды, тенопозиды, винкристина, винбластина, колхицина, дигидроксиантрацин диона, актиномицина, дифтерийного токсина, экзотоксина *Pseudomonas* (PE) А, PE40, абрина, А-цепи абрина, А-цепи модексина, альфа-сарцина, гелонина, митогеллина, ретстриктоина, феномицина, эномицина, курицина, кротина, калихеамицина, ингибитора *Saponaria officinalis*, глюкокортикоида, ауристатина, аурамицина, иттрия, висмута, комбрестатина, дуокармицинов, доластатина, CC1065 и цисплатина.

(11) Другие модификации антител

[00325] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию или их фрагменты могут быть дополнительно модифицированы, чтобы содержать дополнительные небелковые фрагменты, которые известны в данной области техники и легко доступны. Предпочтительно фрагменты, подходящие для дериватизации антитела, представляют собой водорастворимые полимеры. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают, но не ограничиваются ими, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт,

поливинилпирролидон, поли-1, 3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (или гомополимеры, или статистические сополимеры), декстран или поли(п-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры пропропиленгликоля, сополимеры оксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. Полиэтиленгликоль пропиональдегид может иметь преимущество при производстве вследствие его стабильности в воде. Указанный полимер может обладать любой молекулярной массой и быть разветвленным или неразветвленным. Количество полимеров, присоединенных к антителу, может изменяться и, в случае присоединения более одного полимера, они могут представлять собой одинаковые или разные молекулы. В целом, количество и/или тип полимеров, используемых для дериватизации, можно определить с учетом факторов, включающих, но не ограничиваясь ими, конкретные свойства или функции антитела, подлежащие улучшению, независимо от того, будет ли производное антитела использоваться в терапии при определенных условиях и тому подобное. Такие методики и другие подходящие составы описаны в *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science (2000).

Анализы связывания и другие анализы

[00326] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию можно тестировать на антигенсвязывающую активность, например, известными способами, такими как ИФА, поверхностный плазмонный резонанс (ППР), вестерн-блоттинг и т. д.

[00327] В некоторых вариантах осуществления конкурентные анализы могут использоваться для идентификации антитела, которое конкурирует с любым из антител, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления конкурентные анализы могут использоваться для идентификации антитела, которое конкурирует с любым из антител, перечисленных в **таблицах 1-5, 6A-6C, 7A-7C, 8A-8D, 9A-9D, 10 и 11**, или содержащих переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи из антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2, в отношении связывания с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления такое конкурирующее антитело связывается с одним и тем же эпитопом (например, линейным или конформационным эпитопом), который связывается любым из антител, перечисленных в **таблицах 1-5, 6A-6C, 7A-7C, 8A-8D, 9A-9D, 10 и 11**, или содержащих переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи из антитела, выбранного из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26,

S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, или S7AB-H8.45.2. Подробные иллюстративные способы картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлены в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[00328] В иллюстративном конкурентном анализе иммобилизованный Siglec-7 или клетки, экспрессирующие Siglec-7 на клеточной поверхности, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с Siglec-7 (например, человека или отличного от человека примата), и второе немеченое антитело, которое исследуют в отношении его способности конкурировать с первым антителом за связывание с Siglec-7. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля иммобилизованный Siglec-7 или клетки, экспрессирующие Siglec-7, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не содержащем второе немеченое антитело. После инкубации в условиях, допускающих связывание первого антитела с Siglec-7, избыток несвязавшегося антитела удаляют и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным Siglec-7 или клетками, экспрессирующими Siglec-7. Если количество метки, связанной с иммобилизованным Siglec-7 или клетками, экспрессирующими Siglec-7, существенно снижено в исследуемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает на то, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с Siglec-7. См., Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева

[00329] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут быть получены с использованием рекомбинантных способов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В некоторых вариантах осуществления представлены выделенные нуклеиновые кислоты, имеющие нуклеотидную последовательность, кодирующую любое из антител к Siglec-7 по настоящему описанию. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела к Siglec-7 (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В некоторых вариантах осуществления предложены один или более векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления также предложена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансдуцирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин является эукариотической, например, клеткой яичника китайского хомячка (CHO) или лимфоидной клеткой (например, клеткой Y0, NS0, Sp20).

[00330] Предложены способы получения антитела к Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления способ включает культивирование клетки-хозяина согласно настоящему описанию, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к Siglec-7, в условиях, подходящих для экспрессии антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело впоследствии выделяют из клетки-хозяина (или культуральной среды клетки-хозяина).

[00331] Для рекомбинантного получения антитела к Siglec-7 по настоящему описанию нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к Siglec-7, выделяют и вставляют в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такая нуклеиновая кислота может быть легко выделена и секвенирована с использованием общепринятых способов (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, которые кодируют тяжелые и легкие цепи антитела).

[00332] Подходящие векторы, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из антител против Siglec-7 по настоящему описанию, или их фрагменты, полипептиды (включая антитела), описанные в данном документе, включают, без ограничения, векторы клонирования и векторы экспрессии. Подходящие векторы для клонирования могут быть сконструированы в соответствии со стандартными методами или могут быть выбраны из большого числа векторов клонирования, доступных в данной области техники. Хотя выбранный вектор клонирования может варьироваться в зависимости от клетки-хозяина, которую предполагается использовать, полезные векторы клонирования, как правило, обладают способностью к саморепликации, могут иметь единственную мишень для конкретной рестрикционной эндонуклеазы и/или могут нести гены для маркера, который может быть использован при отборе клонов, содержащих вектор. Примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например, pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и его производные, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ДНК фага и челночные векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие векторы клонирования доступны от коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Stratagene и Invitrogen.

[00333] Векторы экспрессии, как правило, представляют собой реплицируемые полинуклеотидные конструкции, которые содержат нуклеиновую кислоту по настоящему описанию. Вектор экспрессии может реплицироваться в клетках-хозяевах либо в виде эписом, либо в качестве неотъемлемой части хромосомной ДНК. Подходящие векторы экспрессии включают, но не ограничиваются ими, плазмиды, вирусные векторы, включая аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, космоиды и вектор(-ы) экспрессии, описанные в публикации РСТ № WO 87/04462. Компоненты вектора могут обычно включать, но не ограничиваются ими, одно или более из следующего: сигнальную последовательность; точку начала репликации; один или более маркерных генов; подходящие элементы, транскрипционные регуляторные элементы (такие как промоторы, энхансеры и терминатор). Для экспрессии (т.е. трансляции) также обычно требуются один или более транскрипционных регуляторных элементов, таких как сайты связывания рибосом, сайты инициации трансляции и стоп-кодоны.

[00334] Векторы, содержащие представляющие интерес нуклеиновые кислоты, могут быть введены в клетку-хозяина любым из ряда подходящих способов, включая электропорацию, трансфекцию с использованием кальций хлорида, рубидий хлорида, кальций фосфата, DEAE-декстрана или других веществ; бомбардировку микрочастицами, липофекцию; и инфекцию (например, когда вектор представляет собой инфекционный агент, такой как вирус осповакцины). Выбор векторов или полинуклеотидов для введения часто зависит от характеристик клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления вектор

содержит нуклеиновую кислоту, содержащую одну или более аминокислотных последовательностей, кодирующих антитело к Siglec-7 по настоящему описанию.

[00335] Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, включают прокариотические или эукариотические клетки. Например, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут продуцироваться в бактериях, в частности, когда гликозилирование и эффекторная функция Fc не нужны. Для экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях (например, патенты США №№ 5648237, 5789199, и 5840523; и Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, в которых описана экспрессия фрагментов антител в *E. coli*). После экспрессии антитело может быть выделено из пасты бактериальных клеток в растворимой фракции и может быть дополнительно очищено.

[00336] В дополнение к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, также являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии для векторов, кодирующих антитела, включая штаммы грибов и дрожжей, чьи пути гликозилирования были «гуманизированы», что приводит к продукции антител с частичным или полностью человеческим профилем гликозилирования (например, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); и Li *et al.*, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)).

[00337] Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированного антитела также могут быть получены из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые можно использовать в сочетании с клетками насекомых, особенно для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*. Культуры растительных клеток также можно использовать в качестве хозяев (например, патенты США №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429, в которых описана технология PLANTIBODIES™ для получения антител в трансгенных растениях).

[00338] Клетки позвоночных могут также использоваться в качестве хозяев. Например, могут быть подходящими клеточные линии млекопитающих, которые приспособлены для роста в суспензии. Другими примерами полезных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7); линия эмбриональных почеч человека (клетки 293 или 293, как описано, например, в Graham *et al.*, *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (BHK); клетки почки новорожденного хомяка (клетки TM4, описанные, например, в Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой марышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK; клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); клетки опухоли молочной железы (MMT 060562); клетки TRI, как описано, например, в Mather *et al.*, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); клетки MRC 5; и клетки FS4. Другие полезные линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR-CHO (Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); и линии клеток миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Для обзора некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для продукции антител, см., например, Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

Фармацевтические композиции

[00339] Антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут быть включены в различные составы для терапевтического введения путем комбинирования антител к Siglec-7 с соответствующими фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями, и могут быть составлены в виде препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах. Примеры таких составов включают, без ограничения, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, инъекции, ингаляции, гели, микросферы и аэрозоли. Фармацевтические композиции могут включать, в зависимости от желаемого состава, фармацевтически приемлемые нетоксичные носители разбавителей, которые представляют собой носители, как правило, используемые для приготовления фармацевтических композиций для введения животным или человеку. Разбавитель выбирается таким образом, чтобы не влиять на биологическую активность комбинации. Примеры таких разбавителей включают, без ограничения, дистиллированную воду, забуференную воду, физиологический раствор, PBS, раствор Рингера, раствор декстрозы и раствор Хэнка. Фармацевтическая композиция или состав по настоящему описанию может дополнительно содержать другие носители, адъюванты или нетоксичные, нетерапевтические, неиммуногенные стабилизаторы, эксципиенты и тому подобное. Композиции также могут содержать вспомогательные вещества, необходимые для приближения их к физиологическим условиям, такие как регулирующие pH агенты и буферные агенты, регулирующие токсичность агенты, смачивающие агенты и детергенты.

[00340] Фармацевтическая композиция по настоящему описанию также может содержать любой из множества стабилизирующих агентов, таких как, например, антиоксидант. Когда фармацевтическая композиция содержит полипептид, то полипептид может образовывать комплекс с различными хорошо известными соединениями, которые повышают стабильность полипептида *in vivo* или иным образом усиливают его фармакологические свойства (например, увеличивают время полужизни полипептида, снижают его токсичность, и повышают растворимость или поглощение). Примеры таких модификаций или комплексообразующих агентов включают, без ограничения, сульфат, глюконат, цитрат и фосфат. Полипептиды композиции также могут образовывать комплексы с молекулами, которые усиливают их свойства *in vivo*. Такие молекулы включают, без ограничения, углеводы, полиамины, аминокислоты, другие пептиды, ионы (например, натрий, калий, кальций, магний, марганец) и липиды.

[00341] Дополнительные примеры составов, подходящих для различных типов введения, можно найти в Remington's *Pharmaceutical Sciences*, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985). Для краткого обзора способов доставки лекарственных средств см. Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990).

[00342] Для перорального введения активный ингредиент можно вводить в твердых дозированных лекарственных формах, таких как капсулы, таблетки и порошки, или в жидких дозированных лекарственных формах, таких как эликсиры, сиропы и суспензии. Активный компонент(-ы) можно инкапсулировать в желатиновые капсулы вместе с неактивными ингредиентами и порошкообразными носителями, такими как глюкоза, лактоза, сахароза, маннит, крахмал, целлюлоза или производные целлюлозы, магний стеарат, стеариновая кислота, натрий сахарин, тальк, магний карбонат. Примерами дополнительных неактивных ингредиентов, которые могут быть добавлены для обеспечения желаемого цвета, вкуса, стабильности, буферной способности, дисперсии или других известных желательных свойств, являются красный оксид железа, силикагель, натрий лаурилсульфат, диоксид титана и съедобные белые чернила. Подобные разбавители можно использовать для изготовления прессованных таблеток. И таблетки, и капсулы могут

быть изготовлены в виде продуктов с замедленным высвобождением, чтобы обеспечить непрерывное высвобождение лекарства в течение нескольких часов. Прессованные таблетки могут быть покрыты сахаром или пленкой для маскировки любого неприятного вкуса и защиты таблетки от атмосферы, или могут иметь энтеросолюбильное покрытие для селективного распада в желудочно-кишечном тракте. Жидкие дозированные лекарственные формы для перорального введения могут содержать красители и ароматизаторы для улучшения восприятия пациентом.

[00343] Составы, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные, изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества и растворенные вещества, которые делают состав изотоническим с кровью предполагаемого реципиента, а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут содержать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты.

[00344] Компоненты, используемые для составления фармацевтических композиций, предпочтительно имеют высокую чистоту и по сути не содержат потенциально вредных примесей (например, по меньшей мере пищевую степень чистоты (NF - National Food grade), как правило, по меньшей мере аналитическую степень чистоты и более конкретно по меньшей мере фармацевтическую степень чистоты). Более того, композиции, предназначенные для использования *in vivo*, как правило, стерильны. В той степени, в которой данное соединение необходимо синтезировать перед использованием, полученный продукт, как правило, практически не содержит каких-либо потенциально токсичных агентов, в частности любых эндотоксинов, которые могут присутствовать в процессе синтеза или очистки. Композиции для исходного введения также стерильны, по существу изотоничны и изготавливаются в условиях, соответствующих GMP.

[00345] Составы можно оптимизировать для удержания и стабилизации в головном мозге или центральной нервной системе. Когда агент вводят в полость черепа, желательно, чтобы агент удерживался в полости, а не диффундировал или иным образом не пересекал гематоэнцефалический барьер. Методы стабилизации включают сшивание, мультимеризацию или связывание с такими группами, как полиэтиленгликоль, полиакриламид, нейтральные белковые носители и т.д., для достижения увеличения молекулярной массы.

[00346] Другие стратегии увеличения удерживания включают захват антитела к Siglec-7 по настоящему описанию в биоразлагаемый или биоразрушаемый имплантат. Скорость высвобождения терапевтически активного агента регулируется скоростью транспорта через полимерную матрицу и биоразложением имплантата. На перенос лекарственного средства через полимерный барьер также будут влиять растворимость соединения, гидрофильность полимера, степень сшивания полимера, увеличение полимера при поглощении воды, чтобы сделать полимерный барьер более проницаемым для лекарственного средства, геометрия имплантата, и тому подобное. Имплантаты имеют размеры, соразмерные размеру и форме области, выбранной в качестве места имплантации. Имплантаты могут представлять собой частицы, листы, пластыри, пластины, волокна, микрокапсулы и т.п. и могут иметь любой размер или форму, совместимые с выбранным местом введения.

[00347] Имплантаты могут быть монолитными, то есть иметь активный агент, гомогенно распределенный в полимерной матрице, или инкапсулированными, когда резервуар активного агента инкапсулирован в полимерную матрицу. Выбор используемой полимерной композиции будет варьироваться в зависимости от места введения, желаемого периода лечения, переносимости пациентом, природы заболевания, подлежащего лечению, и тому подобного. Характеристики полимеров будут включать способность к

биологическому разложению в месте имплантации, совместимость с представляющим интерес агентом, легкость инкапсуляции, время полужизни в физиологической среде.

[00348] Биоразлагаемые полимерные композиции, которые могут быть использованы, могут представлять собой органические сложные или простые эфиры, которые при разложении приводят к физиологически приемлемым продуктам разложения, включая мономеры. Ангидриды, амиды, ортоэфиры и т.п. сами по себе или в комбинации с другими мономерами могут найти применение. Полимеры будут конденсационными полимерами. Полимеры могут быть сшитыми или несшитыми. Особый интерес представляют полимеры гидроксиалкифатических карбоновых кислот, или гомо-, или сополимеры, и полисахариды. В число представляющих интерес сложных полиэфиров входят полимеры D-молочной кислоты, L-молочной кислоты, рацемической молочной кислоты, гликолевой кислоты, поликапролактона и их комбинации. При использовании L-лактата или D-лактата получают медленно биоразлагаемый полимер, в то время как разложение значительно усиливается с помощью рацемата. Особый интерес представляют сополимеры гликолевой и молочной кислоты, где скорость биоразложения регулируется соотношением гликолевой и молочной кислот. Наиболее быстро разлагаемый сополимер имеет примерно равные количества гликолевой и молочной кислоты, причем любой гомополимер более устойчив к разложению. Соотношение гликолевой кислоты и молочной кислоты также влияет на хрупкость имплантата, где более гибкий имплантат желателен для больших геометрических размеров. Среди представляющих интерес полисахаридов - альгинат кальция и функционализированные целлюлозы, в частности сложные эфиры карбоксиметилцеллюлозы, характеризующиеся нерастворимостью в воде, молекулярной массой от около 5 до 500 кДа и т. д. Биоразлагаемые гидрогели также могут быть использованы в имплантатах по настоящему описанию. Гидрогели обычно представляют собой сополимерный материал, характеризующийся способностью впитывать жидкость. Примеры биоразлагаемых гидрогелей, которые можно использовать, описаны в Heller in: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, N. A. Peppes ed., Vol. III, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp 137-149.

Фармацевтические дозировки

[00349] Фармацевтические композиции по настоящему описанию, содержащие антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, могут быть введены индивидууму, нуждающемуся в лечении с помощью этого антитела, предпочтительно человеку, в соответствии с известными способами, такими как внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение определенного периода времени, внутримышечным, внутрибрюшинным, интрацереброспинальным, интракраниальным, внутриспинальным, подкожным, внутрисуставным, интрасиновиальным, интратекальным, пероральным, местным или ингаляционным путями.

[00350] Дозировки и желаемое использование лекарственного средства в фармацевтических композициях по настоящему описанию можно использовать в зависимости от предполагаемого использования. Определение подходящей дозировки или пути введения находится в компетенции специалиста в данной области техники. Эксперименты на животных служат надежным руководством для определения эффективных доз для лечения человека. Межвидовое масштабирование эффективных доз может быть выполнено в соответствии с принципами, описанными в Mordenti, J. and Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In *Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp.42-46.

[00351] Для введения *in vivo* любого из антител к Siglec-7 по настоящему описанию нормальные дозировки могут варьироваться от около 10 нг/кг до около 100 мг/кг массы тела человека или более в день, предпочтительно от около 1 мг/кг/день до 10 мг/кг/день, в зависимости от пути введения. При повторных введениях в течение нескольких дней или более, в зависимости от степени тяжести заболевания, расстройства или патологического состояния, подлежащего лечению, лечение продолжают до достижения желаемого подавления симптомов.

[00352] Иллюстративная схема применения может включать введение начальной дозы антитела к Siglec-7 около 2 мг/кг с последующей еженедельной поддерживающей дозой около 1 мг/кг каждые две недели. Могут быть полезны другие схемы лечения, в зависимости от модели фармакокинетического распада, которой желает достичь врач. Например, в данном документе предполагается введение от одной до двадцати одной доз в неделю для индивидуума. В некоторых вариантах осуществления дозировка находится в диапазоне от около 3 мкг/кг до около 2 мг/кг (например, около 3 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 1 мг/кг и около 2 мг/кг). В некоторых вариантах осуществления частота дозирования составляет три раза в день, два раза в день, один раз в день, один раз через день, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в восемь недель, один раз в девять недель, один раз в десять недель или один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в три месяца или более. Прогресс лечения легко контролировать с помощью традиционных методик и анализов. Схема применения, включая вводимое антитело к Siglec-7, может изменяться с течением времени независимо от используемой дозы.

[00353] Дозировки для конкретного антитела к Siglec-7 могут быть определены эмпирически у людей, которым производили одно или более введений антитела к Siglec-7. Индивидуумам дают возрастающие дозы антитела к Siglec-7. Для оценки эффективности антитела к Siglec-7, клинического симптома любого из заболеваний, расстройств или патологических состояний по настоящему описанию (например, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, судорожных приступов, дистрофии сетчатки, черепно-мозговой травмы, травмы спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических сосудистых заболеваний и нежелательных симптомов физиологического старения).

[00354] Введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может быть непрерывным или периодическим, в зависимости, например, от физиологического состояния реципиента, от того, является ли цель введения терапевтической или профилактической, а также от других факторов, известных квалифицированным практикующим специалистам. Введение антитела к Siglec-7 может быть по существу непрерывным в течение заранее выбранного периода времени или может осуществляться серией разнесенных по времени доз.

[00355] Рекомендации относительно конкретных дозировок и способов доставки представлены в литературе; см., например, патенты США №№ 4657760; 5206344; или 5225212. В рамках настоящего описания, различные составы будут эффективны для разных видов лечения и различных расстройств, и что введение, предназначенное для лечения конкретного органа или ткани, может потребовать доставки способом, отличным от способа доставки в другой орган или ткань. Более того, дозы можно вводить одним или более отдельными введениями или непрерывной инфузией. В случае повторных введений в течение нескольких суток или более, в зависимости от патологического состояния, лечение продолжают до достижения желаемого подавления симптомов заболевания. Однако, могут быть полезными другие схемы

приема лекарственного средства. Эффективность такой терапии легко контролировать при помощи традиционных методик и методов анализа.

Применение в терапевтических целях

[00356] Как описано в данном документе, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию можно использовать для предотвращения, снижения риска появления или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельдта-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной дегенерации желтого пятна, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, злокачественного новообразования, включая рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие Siglec-7, рак щитовидной железы; инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы В, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекции I типа и/или инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 представляют собой агонистические антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой инертные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой антагонистические антитела.

[00357] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложены способы предотвращения, снижения риска появления или лечения деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельдта-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая-

Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной дегенерации желтого пятна, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, злокачественного новообразования, рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечноклеточного рака, рака почечной лоханки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), множественной миеломы, истинной полицитемии, эссенциального тромбоцитоза, первичного или идиопатического миелофиброза, первичного или идиопатического миелосклероза, миелоидных опухолей, опухолей, экспрессирующих Siglec-7, рака щитовидной железы, инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы В, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria meningitidis*, ВИЧ-инфекции I типа и/или инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*, путем введения нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела согласно настоящему описанию, которое снижает клеточные уровни Siglec-7, ингибирует взаимодействие между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7 или обоими.

[00358] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложены способы предотвращения, снижения риска появления или лечения злокачественного новообразования путем введения нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по настоящему описанию, которое снижает клеточные уровни Siglec-7, ингибирует взаимодействие между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7 или обоими. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует одну или более активностей Siglec-7, выбранных из следующего: (a) стимулирование пролиферации, созревания, миграции, дифференцировки и/или функциональности одного или более из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов, неонкогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухолеассоциированных макрофагов, неонкогенных CD14⁺ миелоидных клеток и регуляторных Т-клеток; (b) усиление инфильтрации одного или более из иммуносупрессорных дендритных клеток, иммуносупрессорных макрофагов, иммуносупрессорных нейтрофилов, неонкогенных супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухолеассоциированных макрофагов и регуляторных Т-клеток в опухолях; (c) увеличение количества опухолевых миелоидных / гранулоцитарных иммуносупрессивных клеток и/или неонкогенных CD14⁺ миелоидных клеток в опухоли, в периферической крови или другом лимфоидном органе; (d) снижение активации опухолеспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; (e) уменьшение инфильтрации опухолеспецифических Т-лимфоцитов с потенциалом уничтожения опухоли; (f) увеличение объема опухоли; (g) увеличение скорости роста опухоли; (h) увеличение метастазирования; (i) увеличение частоты рецидивов опухоли; (j) увеличение экспрессии одного или более лигандов PD-1; (k) снижение эффективности одного или более иммунотерапевтических средств, которые модулируют

противоопухолевые Т-клеточные ответы, необязательно при этом одно или более иммунотерапевтических средств представляют собой иммунотерапевтические средства, нацеленные на один или более белков, выбранных из группы, состоящей из CD33, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, рецептора CSF-1 и любой их комбинации, или одну или более противораковых вакцин; и (l) снижение эффективности одного или более химиотерапевтических агентов, необязательно при этом один или более химиотерапевтических агентов представляет собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (Adriamycin®), эпирубицин (Ellence®), таксаны, паклитаксел (Taxol®), доцетаксел (Taxotere®), 5-фторурацил (5-ФУ), циклофосфамид (Cytosan®), карбоплатин (Paraplatin®), оксалиплатин (Eloxatin®), лейковорин, темозолмид (Temodar®) и любые их комбинации. В некоторых вариантах осуществления антитело проявляет одну или более активностей, выбранных из следующего: (a) увеличение количества инфильтрирующих опухоли CD3⁺ Т-клеток; (b) снижение клеточного уровня Siglec-7 в неонкогенных CD14⁺ миелоидных клетках, необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль клетки, или необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (c) уменьшение количества неонкогенных CD14⁺ миелоидных клеток, необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль клетки, или необязательно при этом неонкогенные CD14⁺ миелоидные клетки присутствуют в крови; (d) снижение уровней PD-L1 в одной или более клетках, необязательно при этом одна или более клеток не представляют собой неонкогенные супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC); (e) снижение скорости роста солидных опухолей; (f) уменьшение объема опухоли; (g) повышение эффективности одного или более ингибиторов PD-1; (h) повышение эффективности одного или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств, необязательно при этом одно или более терапевтических средств-ингибиторов контрольных точек и/или иммуномодулирующих терапевтических средств нацелены на один или более из CTLA4, аденозинового пути, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3 или любой их комбинации; (i) повышение эффективности одного или более химиотерапевтических агентов, необязательно при этом один или более из химиотерапевтических агентов представляет собой гемцитабин, капецитабин, антрациклины, доксорубин (Adriamycin®), эпирубицин (Ellence®), таксаны, паклитаксел (Taxol®), доцетаксел (Taxotere®), 5-фторурацил (5-ФУ), циклофосфамид (Cytosan®), карбоплатин (Paraplatin®), оксалиплатин (Eloxatin®), лейковорин, темозолмид (Temodar®) и любую их комбинацию; и (j) уничтожение экспрессирующих Siglec-7 иммуносупрессорных миелоидных клеток и/или экспрессирующих CD14 клеток в солидных опухолях и связанных кровеносных сосудах при конъюгировании с химическим или радиоактивным токсином.

[00359] Как раскрыто в данном документе, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию также могут быть использованы для индукции и/или стимулирования выживаемости, созревания, функциональности, миграции или пролиферации одной или более иммунных клеток (например, клеток врожденного иммунитета или клеток адаптивного иммунитета). В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложены способы индукции или стимулирования выживаемости, созревания, функциональности, миграции или пролиферации одной или более иммунных клеток у индивидуума, нуждающегося в этом, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела согласно настоящему описанию, которое снижает клеточные уровни Siglec-7, ингибирует взаимодействие

между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7, или обоими. В некоторых вариантах осуществления одна или более иммунных клеток выбраны из дендритных клеток, макрофагов, микроглии, нейтрофилов, Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток и любой их комбинации.

[00360] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой агонистическое антитело к Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой временное агонистическое антитело к Siglec-7 по настоящему описанию, которое сначала действует как агонист, а затем действует как долгосрочное антагонистическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой инертное антитело к Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антагонистическое антитело к Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 снижает клеточные (например, поверхностные, внутриклеточные или общие) уровни Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 индуцирует деградацию Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 индуцирует расщепление Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 индуцирует интернализацию Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 индуцирует шеддинг Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 индуцирует снижение экспрессии Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 ингибирует взаимодействие (например, связывание) между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 временно активирует, а затем индуцирует деградацию Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 временно активирует, а затем индуцирует расщепление Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 временно активирует, а затем индуцирует интернализацию Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 временно активирует, а затем индуцирует шеддинг Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 временно активирует, а затем индуцирует снижение экспрессии Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 временно активирует, а затем индуцирует уменьшение экспрессии Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума имеется вариантный аллель Siglec-7.

[00361] Как описано в данном документе, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут дополнительно использоваться для снижения активности, функциональности или выживаемости регуляторных Т-клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухолеассоциированных макрофагов, клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), и/или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ). В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложены способы снижения активности, функциональности или выживаемости регуляторных Т-клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных дендритных клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, опухолеассоциированных макрофагов, клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), или клеток хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) у индивидуума, нуждающегося в этом, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела, которое связывается или взаимодействует с Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из антагонистического антитела, инертного антитела или агонистического антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело к Siglec-7 или конъюгат антитела к Siglec-7 по настоящему

описанию. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела к Siglec-7 включает антитело к Siglec-7, конъюгированное с детектируемым маркером, токсином или терапевтическим агентом.

[00362] Как описано в данном документе, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут быть использованы для снижения клеточных уровней Siglec-7, ингибирования взаимодействия между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7, или и того и другого на одной или более клетках *in vitro* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложены способы снижения клеточных уровней Siglec-7, ингибирования взаимодействия между Siglec-7 и одним или более лигандами Siglec-7, или и того и другого на одной или более клетках у индивидуума, нуждающегося в этом, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества выделенного антитела к Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 снижает клеточные уровни Siglec-7 *in vivo*.

[00363] Как описано в данном документе, антитела к Siglec-7 по настоящему описанию можно использовать для снижения клеточных уровней Siglec-7 на одной или более клетках, включая, без ограничения, дендритные клетки, дендритные клетки костного мозга, моноциты, микроглию, Т клетки, макрофаги и/или клеточные линии. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложены способы снижения клеточных уровней Siglec-7 на одной или более клетках у индивидуума, нуждающегося в этом, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела к Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления одна или более клеток выбраны из дендритных клеток, дендритных клеток костного мозга, моноцитов, микроглии, Т-клеток и макрофагов и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления антитело к Siglec-7 снижает клеточные уровни Siglec-7 *in vivo*. Клеточные уровни Siglec-7 могут относиться, без ограничения, к уровням Siglec-7 на клеточной поверхности, внутриклеточным уровням Siglec-7 и общим уровням Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления снижение клеточных уровней Siglec-7 включает снижение уровней Siglec-7 на клеточной поверхности. Как здесь используется, уровни Siglec-7 на клеточной поверхности могут быть измерены с помощью любых клеточных анализов *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данном документе или известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления снижение клеточных уровней Siglec-7 включает снижение внутриклеточных уровней Siglec-7. В данном контексте внутриклеточные уровни Siglec-7 могут быть измерены с помощью любых клеточных анализов *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данном документе или известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления снижение клеточных уровней Siglec-7 включает снижение общих уровней Siglec-7. В данном контексте общие уровни Siglec-7 могут быть измерены при помощи любых клеточных анализов *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данной модели или известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 вызывают деградацию Siglec-7, расщепление Siglec-7, интернализацию Siglec-7, шеддинг Siglec-7 и/или снижение экспрессии Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления клеточные уровни Siglec-7 измеряются на первичных клетках (например, дендритных клетках, дендритных клетках костного мозга, моноцитах, микроглии, Т-клетках и макрофагах) или на клеточных линиях с использованием клеточного анализа *in vitro*.

[00364] Другие аспекты настоящего описания относятся к способу выбора нуждающегося в этом субъекта для лечения антителом к Siglec-7, причем способ включает: а. получение образца (например, образца крови) от субъекта; б. обнаружение аллелей Siglec-7, присутствующих у субъекта; и с. выбор субъекта для лечения

антителом, которое связывает или взаимодействует с Siglec-7, у субъекта, имеющего один или более аллелей Siglec-7. Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к способу оценки восприимчивости нуждающегося в этом субъекта на антитело, которое связывается или взаимодействует с Siglec-7, причем способ включает: а. измерение уровней экспрессии CD45⁺ и CD14⁺ на неонкогенных миелоидных клетках в образце крови, полученном от субъекта, перед введением субъекту антитела к Siglec-7; б. введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела; и с. измерение уровней экспрессии CD45⁺ и CD14⁺ на неонкогенных миелоидных клетках в образце крови, полученном от субъекта после введения антитела к Siglec-7, при этом снижение уровней CD45⁺ CD14⁺ на неонкогенных миелоидных клетках после введения антитела к Siglec-7 указывает на то, что субъект отвечает на агент. Могут использоваться любые подходящие способы получения образца, такого как образец крови. Кроме того, следует понимать, что можно использовать любой известный способ обнаружения вариантов и/или аллелей Siglec-7, такой как анализ SNP. В некоторых вариантах осуществления способ оценки восприимчивости дополнительно включает введение одного или более дополнительных терапевтически эффективных количеств антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектом является человек.

[00365] В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет гетерозиготный вариант Siglec-7.

[00366] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему описанию могут дополнительно включать совместное введение антител к Siglec-7 или биспецифических антител к Siglec-7 с антителами, которые связываются с паттерн-распознающими рецепторами, антителами, которые связываются с Toll-подобными рецепторами, антителами, которые связываются с рецепторами молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением, (DAMP), и/или антителами, которые связываются с цитокинами, или антителами к интерлейкинам).

[00367] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему описанию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, и/или одного или более стандартных или исследуемых противораковых терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, выбрано из антитела к PD-L1, антитела к CTLA4, антитела к PD-L2, антитела к PD-1, антитела к B7-H3, антитела к B7-H4 и антитела к HVEM, антитела к В- и Т-лимфоцитарному аттенюатору (BTLA), антитела к рецептору подавления цитотоксичности (KIR), антитела к GAL9, антитела к TIM3, антитела к A2AR, антитела к LAG-3, антитела к фосфатидилсерину, антитела к CD27, антитела к CD33, антитела к ФНО α , антитела к Siglec-5, антитела к Siglec-9, антитела к Siglec-11, антагонистического антитела к TREM1, антагонистического антитела к TREM2 и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления один или более стандартных или исследуемых противораковых методов лечения выбраны из лучевой терапии, цитотоксической химиотерапии, таргетной терапии, терапии иматинибом, терапии трастузумабом, терапии этанерцептом, адоптивного переноса клеток (АСТ), переноса Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-T), вакцинации и цитокинотерапии.

[00368] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему описанию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело,

которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, вводят в комбинации с антителом к Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, выбрано из антитела к CCL2, антитела к CSF-1, антитела к ИЛ-2 и любой их комбинации.

[00369] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему описанию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного агонистического антитела, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки, выбрано из агонистического антитела к CD40, агонистического антитела к OX40, агонистического антитела к ICOS, агонистического антитела к CD28, агонистического антитела к TREM1, агонистического антитела к TREM2, агонистического антитела к CD137/4-1BB, агонистического антитела к CD27, агонистического антитела к глюкокортикоид-индуцированному TNFR-связанному белку GITR и любой их комбинации.

[00370] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему описанию могут дополнительно включать введение индивидууму по меньшей мере одного стимулирующего цитокина. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один стимулирующий цитокин вводят в комбинации с антителом к Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один стимулирующий цитокин выбран из ИФН- α 4, ИФН- β , ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, СРБ, членов семейства ИЛ-20, LIF, ИФН-гамма, OSM, CNTF, ГМ-КСФ, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL10, ИЛ-33, СРБ, ИЛ-33, MCP-1, MIP-1-бета и любой их комбинации.

[00371] В некоторых вариантах осуществления субъект или индивидуум представляет собой млекопитающее. Млекопитающие включают, без ограничения, домашних животных (например, коров, овец, кошек, собак и лошадей), приматов (например, людей и отличных от человека приматов, таких как обезьяны), кроликов и грызунов (например, мышей и крыс). В некоторых вариантах осуществления субъект или индивидуум представляет собой человека.

Деменция

[00372] Деменция представляет собой неспецифический синдром (то есть набор признаков и симптомов), который проявляется как серьезная потеря общих когнитивных способностей у ранее здорового человека, сверх того, что можно было бы ожидать при физиологическом старении. Деменция может быть статической в результате уникальной обширной травмы головного мозга. С другой стороны, деменция может прогрессировать, что приводит к долгосрочному ухудшению из-за повреждения или болезни организма. Хотя деменция гораздо чаще встречается в гериатрической популяции, она также может возникнуть в возрасте до 65 лет. Когнитивные области, затронутые деменцией, включают, помимо прочего, память, концентрацию внимания, язык и решение проблем. Как правило, симптомы должны присутствовать не менее шести месяцев до того, как у человека будет диагностирована деменция.

[00373] Иллюстративные формы деменции включают, без ограничения, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, семантическую деменцию и деменцию с тельцами Леви.

[00374] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить деменцию. В некоторых вариантах осуществления

антитело к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у индивидуума, страдающего деменцией.

Лобно-височная деменция

[00375] Лобно-височная деменция (ЛВД) представляет собой патологическое состояние, возникающее в результате прогрессирующего разрушения лобной доли головного мозга. Со временем дегенерация может перейти на височную долю. Уступая только болезни Альцгеймера (БА) по распространенности, на ЛВД приходится 20% случаев пресенильной деменции. Клинические признаки ЛВД включают дефицит памяти, поведенческие аномалии, изменения личности и расстройства речи (Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., *Trends Genet.* 24:186-194 (2008); Neary, D., *et al.*, *Neurology* 51:1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., *Neurology* 58:1615-1621 (2002)).

[00376] Значительная часть случаев ЛВД наследуется по аутосомно-доминантному типу, но даже в одной семье симптомы могут охватывать спектр от ЛВД с поведенческими нарушениями до первичной прогрессирующей афазии и кортикобазальной ганглионарной дегенерации. ЛВД, как и большинство нейродегенеративных заболеваний, может характеризоваться патологическим присутствием определенных белковых агрегатов в пораженном мозге. Исторически в первых описаниях ЛВД отмечали присутствие внутринейрональных скоплений гиперфосфорилированного Тау-белка в нейрофибриллярных клубках или тельцах Пика. Причинная роль ассоциированного с микротрубочками Тау-белка была подтверждена идентификацией мутаций в гене, кодирующем Тау-белок, в нескольких семьях (Hutton, M., *et al.*, *Nature* 393:702-705 (1998)). Тем не менее, в большинстве случаев в головном мозге с ЛВД не наблюдают накопления гиперфосфорилированного Тау-белка, но проявляется иммунореактивность к убиквитину (убикв.) и TAR ДНК-связывающему белку (TDP43) (Neumann, M., *et al.*, *Arch. Neurol.* 64:1388-1394 (2007)). Было показано, что в большинстве случаев ЛВД с включениями убиквитина (ЛВД-У) есть мутации в гене програнулина.

[00377] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить ЛВД. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у индивидуума, страдающего ЛВД.

Болезнь Альцгеймера

[00378] Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой наиболее распространенную форму деменции. Нет никакого лечения от этой болезни, которая по мере прогрессирования усугубляется и в конечном итоге приводит к смерти. Чаще всего БА диагностируется у людей старше 65 лет. Однако менее распространенная болезнь Альцгеймера с ранним началом может возникнуть намного раньше.

[00379] Общие симптомы болезни Альцгеймера включают поведенческие симптомы, такие как трудности с запоминанием недавних событий; когнитивные симптомы, спутанность сознания, раздражительность и агрессия, перепады настроения, проблемы с языком и потеря долговременной памяти. По мере прогрессирования болезни функции организма утрачиваются, что в конечном итоге приводит к смерти. Болезнь Альцгеймера развивается в течение неизвестного и варьируемого периода времени, прежде чем станет полностью очевидной, и может прогрессировать недиагностированной в течение многих лет.

[00380] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить болезнь Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у индивидуума, страдающего болезнью Альцгеймера.

Болезнь Паркинсона

[00381] Болезнь Паркинсона, которую можно назвать идиопатическим или первичным паркинсонизмом, ригидно-гипокинетическим синдромом (HRS) или дрожательным параличом, представляет собой нейродегенеративное заболевание головного мозга, которое влияет на двигательную систему. Прогрессирующая гибель клеток мозга, продуцирующих дофамин, приводит к основным симптомам болезни Паркинсона. Чаще всего болезнь Паркинсона диагностируется у людей старше 50 лет. Болезнь Паркинсона является идиопатической (без известной причины) у большинства людей. Однако генетические факторы также играют роль в заболевании.

[00382] Симптомы болезни Паркинсона включают, помимо прочего, тремор кистей, рук, ног, челюсти и лица, ригидность мышц конечностей и туловища, замедленность движений (брадикинезию), постуральную неустойчивость, затруднения при ходьбе, психоневрологические проблемы, изменения в речи или поведении, депрессию, тревожность, боль, психоз, деменцию, галлюцинации и проблемы со сном.

[00383] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить болезнь Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у индивидуума, страдающего болезнью Паркинсона.

Боковой амиотрофический склероз (БАС)

[00384] В контексте данного документа термины «боковой амиотрофический склероз (БАС)» или «заболевание двигательных нейронов», или «болезнь Лу Герига» используются взаимозаменяемо и относятся к изнурительному заболеванию различной этиологии, характеризующемуся быстро прогрессирующей слабостью, мышечной атрофией и фасцикуляциями, мышечной спастичностью, затруднением речи (дизартрией), затрудненным глотанием (дисфагией) и затрудненным дыханием (одышкой).

[00385] Было показано, что програнулин играет роль в БАС (Schymick, JC *et al.*, (2007) *J Neurol Neurosurg Psychiatry*;78:754-6) и еще защищает от повреждений, вызванных белками, вызывающими БАС, такими как TDP-43 (Laird, AS *et al.*, (2010). *PLoS ONE* 5: e13368). Также было продемонстрировано, что про-ФРН индуцирует опосредованную p75 смерть олигодендроцитов и кортико-спинальных нейронов после повреждения спинного мозга (Beatty *et al.*, *Neuron* (2002),36, pp. 375-386; Giehl *et al*, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* (2004), 101, pp 6226-30).

[00386] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 согласно настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить БАС. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у человека, страдающего боковым амиотрофическим склерозом.

Болезнь Хантингтона

[00387] Болезнь Хантингтона (БХ) представляет собой наследственное нейродегенеративное заболевание, вызываемое аутосомно-доминантной мутацией в гене хантингтина (HTT). Экспансия триплетного повтора цитоксин-аденин-гуанин (CAG) в гене хантингтина приводит к продукции мутантной формы белка хантингтина (Htt), кодируемой этим геном. Этот мутантный белок хантингтин (mHtt) токсичен и способствует гибели нейронов. Симптомы болезни Хантингтона чаще всего проявляются в возрасте от 35 до 44 лет, хотя могут появиться в любом возрасте.

[00388] Симптомы болезни Хантингтона включают, помимо прочего, проблемы моторного контроля, прерывистые, случайные движения (хорею), аномальные движения глаз, нарушение равновесия, судороги, затрудненное жевание, затрудненное глотание, когнитивные проблемы, измененную речь, дефицит памяти, трудности мышления, бессонницу, утомляемость, слабоумие, изменения личности, депрессию, тревожность и компульсивное поведение.

[00389] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить болезнь Хантингтона (HD). В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у индивидуума, страдающего болезнью Хантингтона.

Таупатия

[00390] Таупатии представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, вызванных агрегацией Тау-белка, связанного с микротрубочками, в головном мозге. Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее известной таупатией и включает накопление Тау-белка в нейронах в форме нерастворимых нейрофибриллярных клубков (НФК). Другие таупатии включают прогрессирующий надъядерный паралич, деменцию боксеров (хроническую травматическую энцефалопатию), лобно-височную деменцию и паркинсонизм, связанные с хромосомой 17, болезнь Литико — Бодига (комплекс паркинсонизма и деменции на Гуаме), деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, ганглиоглиому и ганглиоцитому, менингиоангиоматоз, подострый склерозирующий панэнцефалит, свинцовую энцефалопатию, туберозный склероз, болезнь Галлервордена — Шпатца, липофусциноз, болезнь Пика, кортикобазальную дегенерацию, заболевание, характеризующееся появлением аргирофильных зерен (AGD), болезнь Хантингтона, и лобно-височную лобарную дегенерацию.

[00391] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить таупатию. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у индивидуума, страдающего таупатией.

Рассеянный склероз

[00392] Рассеянный склероз (РС) также называют диссеминированным склерозом или диссеминированным энцефаломиелитом. РС представляет собой воспалительное заболевание, при котором жировые миелиновые оболочки вокруг аксонов головного и спинного мозга повреждаются, что приводит к демиелинизации и рубцеванию, а также к широкому спектру признаков и симптомов. РС влияет на способность нервных клеток головного и спинного мозга эффективно взаимодействовать друг с другом. Нервные клетки общаются, посылая электрические сигналы, называемые потенциалами действия, по длинным волокнам, называемым аксонами, которые содержатся в изолирующем веществе, называемом миелином. При РС собственная иммунная система организма атакует и повреждает миелин. Когда аксоны утрачивают миелин, они больше не могут эффективно проводить сигналы. Начало рассеянного склероза, как правило, возникает у молодых людей и чаще встречается у женщин (http://en.wikipedia.org/wiki/Multiple_sclerosis - cite_note-pmid18970977-1).

[00393] Симптомы рассеянного склероза включают, без ограничения, изменения в чувствительности, такие как потеря чувствительности или пощипывание; покалывание или онемение, такое как гипестезия и парестезия; мышечная слабость; клоническая судорога; мышечные спазмы; затруднение в движении; трудности с координацией и равновесием, например, атаксия; проблемы с речью, например, дизартрия, или

проблемы с глотанием, например, дисфагия; проблемы со зрением, такие как нистагм, неврит зрительного нерва, включая фосфены, и двоение в глазах; усталость; острая или хроническая боль; и проблемы с мочевым пузырем и кишечником; когнитивные нарушения разной степени; эмоциональные симптомы депрессии или нестабильного настроения; феномен Утхоффа, который представляет собой обострение существующих симптомов из-за воздействия более высоких, чем обычно, температур окружающей среды; и симптом Лермитта, который представляет собой ощущение прохождения электрического тока, которое проходит по спине при сгибании шеи.

[00394] В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 по настоящему описанию может предотвратить, снизить риск и/или лечить рассеянный склероз. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к Siglec-7 может модулировать одну или более активностей Siglec-7 у страдающего рассеянным склерозом.

Злокачественное новообразование

[00395] Дополнительные аспекты настоящего описания относятся к способам предотвращения, снижения риска появления или лечения злокачественного новообразования путем введения пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества выделенного антитела к Siglec-7 по настоящему описанию. В этих способах можно использовать любое из выделенных антител по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой агонистическое антитело согласно настоящему описанию. В других вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой антагонистическое антитело по настоящему описанию. В других вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой инертное антитело по настоящему описанию. В других вариантах осуществления выделенное антитело представляет собой конъюгат антитела по настоящему описанию.

[00396] Как описано в данном документе, известно, что микроокружение опухоли содержит гетерогенный иммунный инфильтрат, который содержит Т-лимфоциты, макрофаги и клетки миелоидного/гранулоцитарного происхождения. Присутствие и активность регуляторных Т-клеток, погруженных в опухоль иммуносупрессорных миелоидных клеток и/или M2 макрофагов в опухолях связаны с плохим прогнозом. Напротив, присутствие и активность цитотоксических Т-лимфоцитов благоприятны для лечения злокачественного новообразования. Ожидается, что методы лечения, которые прямо или косвенно усиливают активность цитотоксических Т-клеток и снижают количество и активность различных иммуносупрессорных клеток, обеспечат значительный терапевтический эффект. Основополагающее доклиническое исследование показало синергизм между лекарственными средствами, которые нацелены на иммуносупрессорные клетки (например, антитела, блокирующие CSF1/CSF1R), и антителами, блокирующими иммунные контрольные точки, которые активируют цитотоксические Т-клетки, что указывает на то, что манипулирование обоими типами клеток демонстрирует эффективность на моделях опухолей, где отдельные методы лечения малоэффективны (Zhu Y; Cancer Res. 2014 Sep 15; 74(18):5057-69). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления блокирование Siglec-7, который экспрессируется на миелоидных клетках, субпопуляции Т-клеток и опухолеассоциированных иммунных клетках, может стимулировать полезный противоопухолевый иммунный ответ, приводя к терапевтическому противоопухолевому иммунному ответу.

[00397] В некоторых вариантах осуществления способы предотвращения, снижения риска появления или лечения индивидуума, страдающего злокачественным заболеванием, дополнительно включают введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой

ингибирующей контрольной точки. Примеры антител, которые специфически связываются с молекулой ингибирующей контрольной точки, включают, без ограничения, антитело к PD-L1, антитело к CTLA4, антитело к PD-L2, антитело к PD-1, антитело к B7-H3, антитело к B7-H4 и антитело к HVEM, антитело к BTLA, антитело к GAL9, антитело к TIM3, антитело к A2AR, антитело к LAG-3, антитело к фосфатидилсерину и любую их комбинации. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антагонистическим антителом к Siglec-7 по настоящему описанию.

[00398] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование, которое необходимо предотвратить или вылечить способами по настоящему описанию, включает, без ограничения, плоскоклеточный рак (например, плоскоклеточный рак эпителия), рак легкого, включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого и плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудка, включая рак желудочно-кишечного тракта и стромальную опухоль желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластома, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, рак мочевыводящих путей, гепатому, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия или матки, рак слюнных желез, рака почки, рака предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, гепатокарциному, карциному анального канала, карциному полового члена, меланому, поверхностно-распространяющуюся меланому, злокачественную лентиго-меланому, акральные лентигинозные меланомы, узловую меланому, множественную миелому и В-клеточную лимфому; хронический лимфолейкоз (ХЛЛ); острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ); волосатоклеточный лейкоз; хронический миелобластный лейкоз; и посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство (PTLD), а также патологическую пролиферацию сосудов, связанную с факотозами, отеками (например, связанными с опухолями головного мозга), синдром Мейгса, рак мозга, а также рак головы и шеи и связанные с ними метастазами. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из немелкоклеточного рака легкого, глиобластомы, нейробластомы, почечно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака яичника, меланомы, карциномы молочной железы, рака желудка и гепатоцеллюлярной карциномы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой трижды негативную карциному молочной железы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может представлять собой злокачественное новообразование на ранней стадии или злокачественное новообразование на поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может представлять собой первичную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может представлять собой метастатическую опухоль во втором месте, происходящую от любого из вышеуказанных типов злокачественного новообразования.

[00399] В некоторых вариантах осуществления антитела к Siglec-7 по настоящему описанию могут быть использованы для предотвращения, снижения риска появления или лечения злокачественного новообразования, включая, без ограничения, рак мочевого пузыря, рак груди, рак толстой и прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечно-клеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому и рак щитовидной железы.

[00400] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование экспрессирует повышенные или высокие уровни лиганда Siglec-7. В некоторых вариантах осуществления лиганд Siglec-7 представляет собой один или более из альфа-2,3-связанной сиаловой кислоты и альфа-2,6-связанной сиаловой кислоты, дисиалогалактозилглобозида, дисиалил лактотетраозилцерамида и/или дисиалил GalNAc лактотетраозилцерамида. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование имеет повышенные или высокие уровни инфильтрирующих опухоль NK-клеток.

[00401] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложены способы предотвращения, снижения риска появления или лечения индивидуума, страдающего раком, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела к Siglec-7 по настоящему описанию.

[00402] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей иммунной контрольной точки, и/или применения другой стандартной или исследуемой противораковой терапии. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, выбрано из антитела к PD-L1, антитела к CTLA4, антитела к PD-L2, антитела к PD-1, антитела к B7-H3, антитела к B7-H4 и антитела к HVEM, антитела к B- и T-лимфоцитарному аттенуатору (BTLA), антитела к рецептору подавления цитотоксичности (KIR), антитела к GAL9, антитела к TIM3, антитела к A2AR, антитела к LAG-3, антитела к фосфатидилсерину, антитела к CD27 и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления стандартная или исследуемая противораковая терапия представляет собой один или более методов лечения, выбранных из лучевой терапии, цитотоксической химиотерапии, таргетной терапии, иматиниба (Gleevec®), трастузумаба (Herceptin®), адоптивного переноса клеток (ACT), переноса Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-T), вакцинации и цитокинотерапии.

[00403] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, вводят в комбинации с антителом к Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, выбрано из антитела к CCL2, антитела к CSF-1, антитела к ИЛ-2 и любой их комбинации.

[00404] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного агонистического антитела, которое специфически связывается с белком стимулирующей иммунной контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к Siglec-7 по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки, выбрано из агонистического антитела к CD40, агонистического антитела к OX40, агонистического антитела к ICOS, агонистического антитела к CD28, агонистического антитела к CD137/4-1BB, агонистического антитела к CD27, агонистического антитела к глюкокортикоид-индуцированному TNFR-связанному белку GITR и любой их комбинации.

[00405] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивидууму по меньшей мере одного стимулирующего цитокина. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один стимулирующий цитокин вводят в комбинации с антителом к Siglec-7 согласно настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один стимулирующий цитокин выбран из ИФН-α4, ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-8, СРБ, члена семейства ИЛ-20, LIF, OSM, CNTF, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-18, СРБ, ИФН-α, ИФН-β, ИФН-гамма, ИЛ-2, ИЛ-18, ГМ-КСФ, Г-КСФ, CXCL10, ИЛ-33, МСР-1, МР-1-бета и любой их комбинации.

Наборы/промышленные изделия

[00406] В настоящем описании также предложены наборы и/или промышленные изделия, содержащие описанное в данном документе антитело к Siglec-7 или его функциональный фрагмент. Наборы и/или промышленные изделия по настоящему описанию могут содержать один или более контейнеров, содержащих очищенное антитело по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления наборы и/или промышленные изделия дополнительно включают инструкции по применению в соответствии со способами по данному описанию.

[00407] В некоторых вариантах осуществления эти инструкции содержат описание введения антитела к Siglec-7, описанного в данном документе, для предотвращения, снижения риска появления или лечения индивидуума, имеющего заболевание, расстройство или повреждение, выбранное из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, ревматоидного артрита, заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, ожирения, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозного заболевания, саркоидоза, возрастных заболеваний, судорожных приступов, травм спинного мозга, черепно-мозговых травм, возрастной дегенерации желтого пятна, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазных инфекций, системных инфекций, волчанки, артрита, рассеянного склероза, низкой плотности костей, остеопороза, остеогенеза, связанного с остеопорозом заболевания, костной болезни Педжета, злокачественного новообразования, включая рак мочевого пузыря, рак мозга, рак груди, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки, лейкоз, рак легкого, меланому, неходжкинскую лимфому, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, фибросаркому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), множественную миелому, истинную полицитемию, эссенциальный тромбоцитоз, первичный или идиопатический миелофиброз, первичный или идиопатический миелосклероз, миелоидные опухоли, опухоли, экспрессирующие Siglec-7, рак щитовидной железы; инфекций, герпеса ЦНС, паразитарных инфекций, инфекции, вызванной *Trypanosoma*, инфекции, вызванной *Trypanosoma cruzi*, инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, инфекции, вызванной *Leishmania donovani*, инфекции, вызванной *Streptococcus* группы В, инфекции, вызванной *Campylobacter jejuni*, инфекции, вызванной *Neisseria*

meningiditis, ВИЧ-инфекции I типа и инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae*, согласно любым способам по этому описанию.

[00408] В некоторых вариантах осуществления инструкции содержат описание того, как обнаружить белок Siglec-7, например, у индивидуума, в образце ткани или в клетке. Набор и/или промышленное изделие могут дополнительно содержать описание выбора индивидуума, подходящего для лечения, на основе определения того, имеет ли этот индивидуум заболевание и стадию заболевания.

[00409] В некоторых вариантах осуществления наборы и/или промышленные изделия могут дополнительно содержать другое антитело по настоящему описанию (например, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с молекулой ингибирующей контрольной точки, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, и/или по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается с белком стимулирующей контрольной точки) и/или по меньшей мере один стимулирующий цитокин. В некоторых вариантах осуществления наборы и/или промышленные изделия могут дополнительно содержать инструкции по применению антитела и/или стимулирующего цитокина в комбинации с антителом к Siglec-7, описанным в данном документе, инструкции по применению антитела к Siglec-7, описанного в данном документе, в комбинации с антителом и/или стимулирующим цитокином, или инструкциями по применению антитела к Siglec-7, описанного в данном документе, и антитела и/или стимулирующего цитокина, в соответствии с любыми способами по данному описанию.

[00410] Инструкции, как правило, включают информацию о дозировке, схеме применения препарата и способе введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут быть стандартными дозами, многодозовыми упаковками (например, многодозовыми контейнерами) или частичными дозами. Инструкции, поставляемые в наборах и/или изделиях по настоящему описанию, 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).

[00411] На этикетке или на листке-вкладыше указано, что композиция используется для лечения, например, заболевания по настоящему описанию. Могут быть предложены инструкции по применению любого из описанных в данном документе способов.

[00412] Наборы и/или промышленные изделия по настоящему описанию 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. Также предусмотрены упаковки для применения в комбинации с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения лекарственного средства (например, аэрозольный ингалятор) или инфузионное устройство, такое как мини-помпа. Набор и/или промышленное изделие может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет с раствором для внутривенного введения или флакон с пробкой, которую можно проткнуть иглой для подкожных инъекций). Контейнер может также иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет с раствором для внутривенного введения или флакон с пробкой, которую можно проткнуть иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный агент в композиции представляет собой описанное в данном документе антитело к Siglec-7. Контейнер может дополнительно содержать второй фармацевтически активный агент.

[00413] В наборах и/или промышленных изделиях могут быть необязательно предложены дополнительные компоненты, такие как буферы и интерпретирующую информацию. Как правило, набор содержит контейнер и этикетку или листок-вкладыш(-и) на контейнере или связанную с ним.

Применение в диагностических целях

[00414] Выделенные антитела по настоящему описанию (например, антитело к Siglec-7, описанное в данном документе) также имеют диагностическую ценность. Таким образом, это описание обеспечивает способы применения антител по этому описанию или их функциональных фрагментов для диагностических целей, таких как обнаружение белка Siglec-7 у индивидуума или в образцах тканей, полученных от индивидуума.

[00415] В некоторых вариантах осуществления индивидуум является человеком. В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой пациента-человека, страдающего или подверженного риску развития заболевания, расстройства или повреждения по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления диагностические способы включают обнаружение белка Siglec-7 в биологическом образце, таком как биоптат, ткань или клетка. Описанное в данном документе антитело к Siglec-7 приводят в контакт с биологическим образцом, и обнаруживают связанное с антигеном антитело. Например, биоптат может быть окрашен антителом к Siglec-7, описанным в настоящем документе, для обнаружения и/или количественной оценки связанных с заболеванием клеток. Способ обнаружения может включать количественную оценку связанного с антигеном антитела. Обнаружение антител в биологических образцах может происходить любым способом, известным в данной области техники, включая иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноцитохимию, иммуногистохимию, ИФА, FACS-анализ, иммунопреципитацию или микропозитронно-эмиссионную томографию. В некоторых вариантах осуществления антитело метят радиоактивным изотопом, например, ^{18}F , а затем обнаруживают с использованием анализа методом микропозитронно-эмиссионной томографии. С помощью неинвазивных методов, таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), рентгеновская компьютерная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), компьютерная томография (КТ) и компьютерная аксиальная томография (КАТ), у пациента также может быть количественно определено связывание антител.

[00416] В других вариантах осуществления выделенное антитело по настоящему описанию (например, антитело к Siglec-7, описанное в данном документе) можно использовать для обнаружения и/или количественной оценки, например, микроглии в образце мозга, взятом из модели доклинического заболевания (например, модели заболевания у отличного от человека животного). Таким образом, выделенное антитело по настоящему описанию (например, антитело к Siglec-7, описанное в данном документе) может быть полезно для оценки терапевтического ответа после лечения в модели заболевания или повреждения нервной системы, такого как лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, судорожные приступы, дистрофия сетчатки, атеросклеротические сосудистые заболевания, болезнь Насу-Хакола или рассеянный склероз, по сравнению с контролем.

[00417] Настоящее описание станет более понятным со ссылкой на нижеприведенные примеры. Однако их не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего описания. Вся цитируемая литература по всему описанию включена в настоящее описание посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Гуманизация мышинового антитела к Siglec-7 и параметры связывания таких гуманизированных вариантов

[00418] Целью следующего примера было создание гуманизированных вариантов мышинового антитела к Siglec-7 человека, S7AB, и определение характеристик связывания гуманизированных антител с Siglec-7. S7AB содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность QVHLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFTNCWMNWVRQRPKGGLDWIGRIFPGNGHTNYSKGFKDKATLTEDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARDYSDDYFDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 61), и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность DVQMTQTTSLSASLGDRVTISCRASQDINTYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62). S7AB был ранее описан в WO2017/040301 как S7-10B5.1 (SEQ ID NO: 520 и SEQ ID NO: 513).

[00419] S7AB был гуманизирован путем трансплантации CDR исходного антитела мыши на каркасную область зародышевой линии человека, ближайшую по последовательности к антителу мыши. Также были получены антитела с одной или более обратными мутациями каркасной области. Всего было получено 12 гуманизированных антител S7AB. Последовательности переменных областей тяжелой цепи антител представлены в **таблице 10** ниже. Последовательности переменных областей легкой цепи антител представлены в **таблице 11** ниже.

[00420] 12 гуманизированных антител S7AB оценивали на связывание с первичными дендритными клетками с помощью проточной цитометрии. Моноциты выделяли из крови здоровых доноров-людей с использованием коктейля антител для выделения моноцитов RosetteSep™ (StemCell Technologies). Выделенные моноциты подвергали дифференциации в дендритные клетки с помощью 100 нг/мл ГМ-КСФ и 100 нг/мл ИЛ-4 (Peprotech). Дендритные клетки инкубировали с разведениями антител к Siglec-7 в течение 30 минут на льду в темноте с последующей 30-минутной инкубацией с конъюгированными флуоресцентным красителем вторичными антителами к IgG человека. Клетки дважды промывали в буфере для FACS (PBS + 2% FBS, 2 mM ЭДТА) и проводили проточную цитометрию на BD FACS Canto. Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo (г. Ашленд, штат Орегон). Результаты показаны на **Фиг. 1**, а полумаксимальная эффективная концентрация (EC₅₀) для каждого антитела приведена в **таблице 1** ниже.

Таблица 1. Связывание гуманизированных антител к Siglec-7 с дендритными клетками

Антитело	EC ₅₀ (нМ)
S7AB-H1	4,6
S7AB-H2	1,8
S7AB-H3	1,6
S7AB-H4	3,2
S7AB-H5	1,1
S7AB-H6	1,6
S7AB-H7	3,3
S7AB-H8	1,5
S7AB-H9	1,5

S7AB-H10	6,3
S7AB-H11	1,2
S7AB-H12	5,6

[00421] В то время как все 12 гуманизированных антител, связанных с дендритными клетками, восемь антител, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H11 и S7AB-H12, продемонстрировали значительно лучшее связывание, по сравнению с другими антителами. Параметры аффинности четырех гуманизированных антител, которые проявляют устойчивое связывание, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H11 и S7AB-H12, измеряли с помощью биослойной интерферометрии в анализе ForteBio в соответствии со стандартными методиками (Estep *et al.* (2013) *MAbs* 5(2): 270-8). В этом анализе гуманизированные антитела сравнивали непосредственно с S7AB. Вкратце, антитела захватывали биосенсором к человеческому или мышиному Fc IgG (Pall ForteBio). Затем различные концентрации (0-100 нМ) меченного гистидином Siglec-7 человека (NovoProtein) связывали с поверхностью с антителом для захвата Siglec-7 (время ассоциации 200 с, время диссоциации 900 с). Мультиконцентрационный кинетический анализ выполняли с использованием модели взаимодействия 1:1 для определения констант скорости ассоциации и диссоциации (k_a и k_d , соответственно) для каждого антитела. Кажущиеся константы аффинности (K_D) вычисляли из соотношения k_d/k_a . Результаты проиллюстрированы ниже в **таблице 2**.

Таблица 2. Параметры аффинности гуманизированных антител к Siglec-7

Антитело	Кажущаяся k_a (М*с) ⁻¹	Кажущаяся k_d (с ⁻¹)	Кажущаяся K_D (нМ)
S7AB	1.95E+5	2.42E-4	1240
S7AB-H8	1.45E+5	1.25E-4	860
S7AB-H9	1.50E+5	1.12E-4	740
S7AB-H11	1.60E+5	1.72E-4	1070
S7AB-H12	1.50E+5	1.52E-4	1010

Пример 2: Снижение количества Siglec-7 на клеточной поверхности с использованием гуманизированных антител

[00422] Целью следующего примера было проверить, способны ли гуманизированные антитела к Siglec-7 (как описано в Примере 1) снижать уровень Siglec-7 на клеточной поверхности первичных дендритных клеток человека.

[00423] Моноциты выделяли из крови здоровых доноров-людей с использованием коктейля антител для выделения моноцитов RosetteSep™ (StemCell Technologies). Выделенные моноциты подвергали дифференциации в дендритные клетки с помощью 100 нг/мл ГМ-КСФ и 100 нг/мл ИЛ-4 (Peprotech). Дендритные клетки высевали в 96-луночные планшеты из расчета 100000 клеток на лунку, в 24-луночные планшеты из расчета 200000 клеток на мл или в 6-луночные планшеты из расчета 500000 клеток в 2 мл RPMI с добавлением 10% Hyclone FBS, 2 mM глутамина, пенициллин/стрептомицин и заменимые аминокислоты. Антитела к Siglec-7 или изотипические контрольные антитела добавляли в лунки и инкубировали в течение 24 часов при 37 °C с 5% CO₂. Экспрессию рецептора клеточной поверхности определяли с помощью FACS-анализа согласно стандартным методикам. Вкратце, клетки инкубировали с конъюгированным с флуорохромом клоном 6-434 антитела к Siglec-7 (BioLegend) в течение 30 минут на льду в темноте. Клетки дважды промывали в буфере для FACS (PBS + 2% FBS, 2 mM ЭДТА) и проводили

проточную цитометрию на BD FACS Canto. Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo (г. Ашленд, штат Орегон), и экспрессию и снижение количества Siglec-7 на клеточной поверхности рассчитывали как процент экспрессии рецептора относительно экспрессии в отсутствие антитела. Полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) каждого антитела приведена в **таблице 3** ниже.

Таблица 3. Снижение количества Siglec-7 на клеточной поверхности с использованием гуманизированных антител

Антитело	Снижение количества рецепторов, (EC_{50}) (пМ):
S7AB-H8	394,6
S7AB-H9	431,6
S7AB-H11	410,9
S7AB-H12	447,0

[00424] Все четыре гуманизированных антитела были способны снижать уровни Siglec-7 на клеточной поверхности, при этом S7AB-H8 является наиболее сильным из гуманизированных антител.

Пример 3. Созревание аффинности S7AB-H8 и определение характеристик таких антител с созревшей аффинностью

[00425] Целью этого примера было получение и определение характеристик вариантов S7AB-H8 с созревшей аффинностью.

[00426] Созревание аффинности AB-H8 проводили с помощью фагового дисплея. Вкратце, остатки в полинуклеотидах, кодирующих тяжелую и/или легкую цепи гуманизированного антитела, подвергали мутагенезу и экспрессировали в фаге. После нескольких раундов отбора рекомбинантного человеческого белка Siglec-7 выбранный фаг секвенировали, рекомбинантные антитела экспрессировали в клетках млекопитающих и очищали для дальнейшего анализа. Было отобрано и получено 45 вариантов антител S7AB-H8 с созревшей аффинностью, S7AB-H8.1-S7AB-H8.45. В подмножестве антител с созревшей аффинностью S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.44, и S7AB-H8.45, в вариабельный домен тяжелой цепи были введены дополнительные мутации, в результате чего были получены дополнительные антитела: S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1 и S7AB-H8.45.2. Последовательности HVR вариабельных областей тяжелой цепи антител представлены в **таблицах 6А-6С** ниже. Последовательности HVR вариабельных областей легкой цепи антител представлены в **таблицах 7А-7С** ниже. Каркасные области тяжелой цепи антител приведены в **таблицах 8А-8D** ниже. Каркасные области легкой цепи антител показаны в **таблицах 9А-9D** ниже. Последовательности вариабельных областей тяжелой цепи антител представлены в **таблице 10** ниже. Последовательности вариабельных областей легкой цепи антител представлены в **таблице 11** ниже.

[00427] Аффинности S7AB-H8 и вариантов с S7AB-H8.1 по S7AB-H8.45 к Siglec-7 человека измеряли с помощью биослойной интерферометрии в соответствии со способом, описанным в примере 1 выше. Результаты приведены в **Таблице 4** ниже.

Таблица 4. Значения аффинности S7AB-H8 и его вариантов к Siglec-7 человека

Антитело	Кажущаяся k_{on} (М*с)⁻¹	Кажущаяся k_{off} (с⁻¹)	Кажущаяся K_D (М)	Кратность улучшения по сравнению с S7AB-H8)
S7AB-H8	1.66E+05	1.74E-04	1.05E-09	
S7AB-H8.1	1,23E +05	7.05E-05	5.74E-10	1,8
S7AB-H8.2	1.42E+05	3.23E-05	2.27E-10	4,6
S7AB-H8.3	2.06E+05	6.05E-05	2.94E-10	3,6
S7AB-H8.4	1.47E+05	3.15E-05	2.14E-10	4,9
S7AB-H8.5	1.16E+05	4.08E-05	3.51E-10	3,0
S7AB-H8.6	2.55E+04	5.71E-05	2.24E-09	0,5
S7AB-H8.7	6.76E+04	4.19E-05	6.20E-10	1,7
S7AB-H8.8	1.71E+05	6.33E-05	3.71E-10	2,8
S7AB-H8.9	9.14E+04	4.82E-05	5.27E-10	2,0
S7AB-H8.10	5.04E+04	8.14E-05	1.62E -09	0,6
S7AB-H8.11	3.14E+03	3.88E-04	1.24E-07	0,01
S7AB-H8.12	3.35E+03	1.55E-04	4.63E-08	0,02
S7AB-H8.13	8.50E+03	3.03E-04	3.57E-08	0,03
S7AB-H8.14	3.26E+03	1.76E-04	5.41E-08	0,02
S7AB-H8.15	2.33E+05	6.07E-04	2.60E-09	0,4
S7AB-H8.16	6.54E+04	1.65E-04	2.53E-09	0,4
S7AB-H8.17	1.28E+05	1.04E-04	8.14E-10	1,3
S7AB-H8.18	1.99E+05	1.42E-04	7.12E-10	1,5
S7AB-H8.19	1.25E+05	1.12E-04	8.98E-10	1,2
S7AB-H8.20	7.99E+04	1.45E-04	1.81E-09	0,6
S7AB-H8.21	1.33E+05	1.25E-04	9.36E-10	1,1
S7AB-H8.22	1.35E+05	<1.00E-07	<1.00E-12	>1000
S7AB-H8.23	2.35E+05	5.53E-05	2.35E-10	4,5
S7AB-H8.24	1.31E+05	4.81E-06	3.68E-11	28,5
S7AB-H8.25	1.04E+05	2.77E-05	2.65E-10	4,0
S7AB-H8.26	1.49E+05	5.90E-05	3.97E-10	2,6
S7AB-H8.27	1.56E+05	1.56E-05	1.00E -10	10,5
S7AB-H8.28	2.21E+05	3.51E-05	1.59E-10	6,6
S7AB-H8.29	1.52E+05	4.00E-05	2.63E-10	4,0
S7AB-H8.30	1.05E+05	4.13E-05	3.95E-10	2,7
S7AB-H8.31	1.45E+05	1.07E-04	7.42E-10	1,4
S7AB-H8.32	1.11E+05	3.93E-05	3.56E-10	2,9
S7AB-H8.33	2.35E+05	7.64E-05	3.26E-10	3,2
S7AB-H8.34	1.19E+05	2.81E-05	2.37E-10	4,4

S7AB-H8.35	1.08E+05	6.57E-05	6.07E-10	1,7
S7AB-H8.36	1,62E+05	9.81E-05	6.05E-10	1,7
S7AB-H8.37	1.86E+05	2.50E-05	1.35E-10	7,8
S7AB-H8.38	2.29E+05	7.40E-05	3.24E-10	3,2
S7AB-H8.39	1.66E+05	3.56E-05	2.15E -10	4,9
S7AB-H8.40	1.48E+05	6.29E-05	4.25E-10	2,5
S7AB-H8.41	1.72E+05	9.12E-05	5.31E-10	2,0
S7AB-H8.42	1.91E+05	2.42E-05	1.26E-10	8,3
S7AB-H8.43	2.28E+05	5.84E-05	2.56E -10	4,1
S7AB-H8.44	1.88E+05	3.71E-05	1.98E-10	5,3
S7AB-H8.45	1.70E+05	7.55E-05	4.44E-10	2,4

[00428] Антитела с созревшей аффинностью проявляли широкий диапазон аффинностей, от 0,01 до >1000-кратного улучшения кажущейся аффинности по сравнению с исходным антителом S7AB-H8.

[00429] Антитела с созревшей аффинностью S7AB-H8.1 - S7AB-H8.45 также оценивали на связывание с первичными дендритными клетками с помощью проточной цитометрии в соответствии со способом, описанным в примере 1, и сравнивали их непосредственно с исходным гуманизированным антителом S7AB-H8 и с химерным антителом S7AB. Результаты связывания для девяти антител с созревшей аффинностью, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.11, S7AB-H8.13, S7AB-H8.18, S7AB-H8.20, S7AB-H8.35, S7AB-H8.43, и S7AB-H8.44; S7AB-H8; и химерное антитело S7AB, показаны на **Фиг. 2**. Антитела с созревшей аффинностью демонстрировали диапазон связывания с дендритными клетками. Некоторые антитела, представленные S7AB-H8.11 и S7AB-H8.13, связываются хуже, чем химерные Ат или исходное гуманизированное антитело S7AB-H8; некоторые антитела, например, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.20 и S7AB-H8.35, связываются немного лучше, чем химерное антитело S7AB или S7AB-H8; и некоторые антитела, включая S7AB-H8.43 и S7AB-H8.44, продемонстрировали значительно повышенное связывание по сравнению с химерным антителом S7AB и с S7AB-H8. Неожиданно S7AB-H8.44 и S7AB-H8.43 продемонстрировали повышенное связывание с клетками по сравнению с S7AB-H8.2, хотя эти три антитела имели сходную аффинность связывания (K_D) с рекомбинантным Siglec-7 по данным измерения с помощью биослойной интерферометрии. Таким образом, сила связывания антитела с клетками не обязательно предсказывается его аффинностью к рекомбинантному белку.

[00430] Антитела с созревшей аффинностью были охарактеризованы по их способности снижать уровни Siglec-7 на клеточной поверхности и были непосредственно сравнены с S7AB-H8 и с химерным антителом S7AB. Снижение количества Siglec-7 на первичных дендритных клетках выполняли, как описано в примере 2 выше. Полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) и максимальное снижение Siglec-7 приведены в **Таблице 5** ниже, а результаты для девяти антител с созревшей аффинностью: S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.11, S7AB-H8.13, S7AB-H8.18, S7AB-H8.20, S7AB-H8.35, S7AB-H8.43, и S7AB-H8.44 показаны на **Фиг. 3**.

Таблица 5. Снижение Siglec-7 на клеточной поверхности с помощью S7AB, S7AB-H8 и вариантов с созревшей аффинностью

Антитело	Снижение	Кратность	Кратность	Максимальное
----------	----------	-----------	-----------	--------------

	количества рецепторов, (EC₅₀) (пМ):	увеличения активности по сравнению с AB-H8	увеличения активности сравнению с химерным Аг	снижение количества (%) оставшегося Siglec-7)
S7AB	1024,0	-	-	28,6
S7AB-H8	340,0	-	3,0	18,3
S7AB-H8.1	117,2	2,9	8,7	10,9
S7AB-H8.2	87,0	3,9	11,8	3,3
S7AB-H8.3	89,2	3,8	11,5	20,1
S7AB-H8.4	79,5	4,3	12,9	4,5
S7AB-H8.5	87,0	3,9	11,8	9,5
S7AB-H8.6	154,5	2,2	6,6	7,2
S7AB-H8.7	84,7	4,0	12,1	2,1
S7AB-H8.8	89,8	3,8	11,4	19,2
S7AB-H8.9	116,4	2,9	8,8	3,1
S7AB-H8.10	197,2	1,7	5,2	7,0
S7AB-H8.11	7140	0,05	0,1	74,7
S7AB-H8.12	25420	0,01	0,04	61,3
S7AB-H8.13	2269,3	0,1	0,5	43,3
S7AB-H8.14	1954,0	0,2	0,5	45,7
S7AB-H8.15	>3000	н/д	н/д	85,0
S7AB-H8.16	348,5	1,0	2,9	10,1
S7AB-H8.17	116,4	2,9	8,8	8,0
S7AB-H8.18	67,3	5,0	15,2	18,9
S7AB-H8.19	97,8	3,5	10,5	6,7
S7AB-H8.20	244,7	1,4	4,2	10,6
S7AB-H8.21	151,7	2,2	6,8	13,6
S7AB-H8.22	108,8	3,1	9,4	3,9
S7AB-H8.23	90,1	3,8	11,4	17,2
S7AB-H8.24	128,7	2,6	8,0	4,3
S7AB-H8.25	189,3	1,8	5,4	9,2
S7AB-H8.26	180,1	1,9	5,7	9,8
S7AB-H8.27	93,7	3,6	10,9	2,9
S7AB-H8.28	74,6	4,6	13,7	17,0
S7AB-H8.29	51,1	6,7	20,0	3,7
S7AB-H8.30	125,5	2,7	8,2	8,2
S7AB-H8.31	142,6	2,4	7,2	10,5
S7AB-H8.32	91,3	3,7	11,2	3,4
S7AB-H8.33	65,3	5,2	15,7	17,2

S7AB-H8.34	117,6	2,9	8,7	3,6
S7AB-H8.35	206,1	1,6	5,0	9,3
S7AB-H8.36	124,6	2,7	8,2	11,4
S7AB-H8.37	71,4	4,8	14,3	3,4
S7AB-H8.38	70,4	4,8	14,5	17,1
S7AB-H8.39	56,8	6,0	18,0	4,3
S7AB-H8.40	115,3	2,9	8,9	9,4
S7AB-H8.41	107,9	3,2	9,5	9,6
S7AB-H8.42	62,6	5,4	16,4	3,3
S7AB-H8.43	33,2	10,2	30,8	17,1
S7AB-H8.44	61,2	5,6	16,7	3,6
S7AB-H8.45	98,6	3,4	10,4	6,9
S7AB-H8.9.1	103,1	3,5	10,5	4,3
S7AB-H8.9.2	117,8	3,1	9,2	4,5
S7AB-H8.10.1	154,0	2,4	7,0	10,7
S7AB-H8.10.2	169,4	2,1	6,4	12,1
S7AB-H8.29.1	53,2	6,8	20,4	5,3
S7AB-H8.29.2	88,9	4,1	12,2	4,9
S7AB-H8.30.1	133,9	2,7	8,1	11,3
S7AB-H8.30.2	114,8	3,2	9,4	10,1
S7AB-H8.34.1	99,5	3,6	10,9	4,4
S7AB-H8.34.2	109,8	3,3	9,9	5,4
S7AB-H8.35.1	184,4	2,0	5,9	10,5
S7AB-H8.35.2	205,3	1,8	5,3	10,8
S7AB-H8.44.1	73,9	4,9	14,7	4,1
S7AB-H8.44.2	76,7	4,7	14,1	3,3
S7AB-H8.45.1	97,0	3,7	11,2	7,8
S7AB-H8.45.2	108,9	3,3	9,9	8,7

[00431] Антитела с созревшей аффинностью проявляли широкий диапазон активностей в снижении уровней Siglec-7 на клеточной поверхности. Некоторые антитела, например, S7AB-H8.11 и S7AB-H8.13, были существенно менее активными, чем S7AB-H8, или химерное антитело S7AB; ряд антител, например, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.20, и S7AB-H8.35, продемонстрировали умеренное повышение активности в 1,4-4 раза по сравнению с исходным антителом, S7AB-H8; и некоторые антитела, включая S7AB-H8.18, S7AB-H8.43, и S7AB-H8.44, продемонстрировали более чем 5-кратное увеличение активности по сравнению с S7AB-H8 и более чем 15-кратное увеличение активности по сравнению с химерным антителом S7AB. Антитела также демонстрировали ряд свойств в отношении максимального снижения уровней Siglec-7 на поверхности дендритных клеток. Обработка дендритных клеток некоторыми антителами, например, S7AB-H8.11 и S7AB-H8.13, приводила к тому, что на поверхности клетки оставалось более 40% Siglec-7; обработка некоторыми антителами, например, S7AB-H8.1, S7AB-H8.20, S7AB-H8.35, и

S7AB-H8.43, приводила к тому, что на поверхности клетки оставалось 9-20% Siglec-7, что аналогично или немного лучше по сравнению с S7AB-H8; обработка другими антителами, например, S7AB-H8.2 и S7AB-H8.44, привела к тому, что на поверхности дендритных клеток осталось менее 5% Siglec-7, что является существенным улучшением как по сравнению с S7AB-H8, так и по сравнению с химерным антителом S7AB.

[00432] Неожиданно оказалось, что антитела, обладающие наилучшей способностью снижать уровни на поверхности клеток Siglec-7, (S7AB-H8.18, S7AB-H.43 и S7AB-H8.44), и антитела, обладающие наилучшим максимальным снижением уровней Siglec-7 на поверхности дендритных клеток, (S7AB-H8.2 и S7AB-H8.44) не продемонстрировали наивысшего кратного улучшения связывания с Siglec-7 человека по сравнению с S7AB-H8 среди всех протестированных антител с созревшей аффинностью (см. Таблицу 4) . Таким образом, антитела, которые лучше всего действовали в отношении снижения уровней Siglec-7 на клеточной поверхности, не были спрогнозированы по их относительной аффинности связывания с Siglec-7.

[00433] Из 61 оцениваемого антитела с созревшей аффинностью S7AB-H8.44 было одним из немногих антител, которое продемонстрировало как существенно улучшенную активность, так и максимальное снижение Siglec-7 на поверхности дендритных клеток по сравнению с химерными Ат и исходным гуманизированным антителом S7AB-H8.

Таблица 6А. Последовательности H1 HVR тяжелой цепи антител к Siglec-7

Ат	H1 HVR	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.6; S7AB-H8.11; S7AB-H8.16; S7AB-H8.21; S7AB-H8.26; S7AB-H8.31; S7AB-H8.36; и S7AB-H8.41	GYAFTETWMN	1
S7AB-H8.2; S7AB-H8.7; S7AB-H8.12; S7AB-H8.17; S7AB-H8.22; S7AB-H8.27; S7AB-H8.32; S7AB-H8.37; и S7AB-H8.42	GYAFTMAWMN	2
S7AB-H8.3; S7AB-H8.8; S7AB-H8.13; S7AB-H8.18; S7AB-H8.23; S7AB-H8.28; S7AB-H8.33; S7AB-H8.38; и S7AB-H8.43	GYAFTGYWMN	3
S7AB-H8.4; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.14; S7AB-H8.19; S7AB-H8.24; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.39; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; и S7AB-H8.44.2	GYAFTAAWMN	4
S7AB-H8.5; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.15; S7AB-H8.20; S7AB-H8.25; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.40; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	GYAFTEAWMN	5
Формула I	GYAFTX ₁ X ₂ WMN X ₁ представляет собой E, M, G, или A X ₂ представляет собой T, A,	6

Аг	H1 HVR	SEQ ID NO:
	или Y	

Таблица 6В. Последовательности H2 HVR тяжелой цепи антител к Siglec-7

Аг	H2 HVR	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.6; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.16; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.21; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.26; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.41; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; и S7AB-H8.44.2	RIFPGLGHTN	7
S7AB-H8.2; S7AB-H8.5; S7AB-H8.7; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.12; S7AB-H8.15; S7AB-H8.17; S7AB-H8.20; S7AB-H8.22; S7AB-H8.25; S7AB-H8.27; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.32; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.37; S7AB-H8.40; S7AB-H8.42; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	RIFPGYGHTN	8
Формула II	RIFPGX ₁ GHTN X ₁ представляет собой L или Y	9

Таблица 6С. Последовательности H3 HVR тяжелой цепи антител к Siglec-7

Аг	H3 HVR	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-	DYSDYYFDY	10

Аг	H3 HVR	SEQ ID NO:
H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2		

Таблица 7А. Последовательности L1 HVR легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	L1 HVR	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	RGSQDINTYLN	11
S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; и S7AB-H8.20	RGSQDTNTYLN	12
S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; и S7AB-H8.25	RASEDINTYLN	13
S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2;	RASQDANTYLN	14
Формула III	RX ₁ SX ₂ DX ₃ NTYLN X ₁ представляет собой G или A X ₂ представляет собой Q или E X ₃ представляет собой I, T, или A	15

Таблица 7В. Последовательности L2 HVR легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	L2 HVR	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-	YTSRLHS	16

Аг	L2 HVR	SEQ ID NO:
H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2		

Таблица 7С. Последовательности L3 HVR легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	L3 HVR	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB- H8.30; S7AB-H8.30.1; и S7AB-H8.30.2	QQGNLLPWT	17
S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB- H8.10.1; и S7AB-H8.10.2	QQGNTKPWT	18
S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; и S7AB-H8.15	QQGNTLPWT	19
S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; и S7AB-H8.20	QQGNTLPWT	20
S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB- H8.35; S7AB-H8.35.1; и S7AB-H8.35.2	QQGGTLPWT	21
S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; и S7AB-H8.40	QQGNVLPWT	22
S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB- H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	QQGNILPWT	23
Формула IV	QX ₁ GX ₂ X ₃ X ₄ PWT X ₁ представляет собой Q	24

Ат	L3 HVR	SEQ ID NO:
	или G X ₂ представляет собой N или G X ₃ представляет собой L, T, V, или I X ₄ представляет собой L или K	

Таблица 8А. Последовательности каркасной области 1 тяжелой цепи антител к Siglec-7

Ат	FR1 VH	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB- H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB- H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB- H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB- H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB- H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB- H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB- H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB- H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB- H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB- H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB- H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KAS	25

Таблица 8В. Последовательности каркасной области 2 тяжелой цепи антител к Siglec-7

Ат	FR2 VH	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.10; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12;	WVRQAPGQGLEWIG	26

Аг	FR2 VH	SEQ ID NO:
S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.30; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.35; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; и S7AB-H8.45		
S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.44.1; и S7AB-H8.45.1	WVRQAPGQRLEWIG	27
S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.44.2; и S7AB-H8.45.2	WVRQARGQRLEWIG	28
Формула V	WVRQAX ₁ GQX ₂ LEWIG X ₁ представляет собой Р или R X ₂ представляет собой G или R	29

Таблица 8С. Последовательности каркасной области 3 тяжелой цепи антител к Siglec-7

Аг	FR3 VH	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-	YAQKFQGRATLTEDTSTSTA YMESSLRSEDТАVYYCAR	30

Аг	FR3 VH	SEQ ID NO:
H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2		

Таблица 8D. Последовательности каркасной области 4 тяжелой цепи антител к Siglec-7

Аг	FR4 VH	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	WGQGTSLTVTS S	31

Таблица 9A. Последовательности каркасной области 1 легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	VL FR1	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVITTC	32

Таблица 9B. Последовательности каркасной области 2 легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	VL FR2	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	WYQQKPGKAP KLLIY	33

Таблица 9C. Последовательности каркасной области 3 легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	VL FR3	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	GVPSRFGSGSG TDYTLTISSLQPE DFATYYC	34

Таблица 9D. Последовательности каркасной области 4 легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	VL FR4	SEQ ID NO:
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB-H8.3; S7AB-H8.4; S7AB-H8.5; S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB-H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; S7AB-H8.10.2; S7AB-	FGQGTEKLEIK	35

H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; S7AB-H8.15; S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; S7AB-H8.20; S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; S7AB-H8.25; S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29.1; S7AB-H8.29.2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30.1; S7AB-H8.30.2; S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34.1; S7AB-H8.34.2; S7AB-H8.35; S7AB-H8.35.1; S7AB-H8.35.2; S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; S7AB-H8.40; S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2		
---	--	--

Таблица 10. Последовательности вариабельной области тяжелой цепи антител к Siglec-7

Аг	HCVR	SEQ ID NO:
S7AB-H1; S7AB-H2; и S7AB-H3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNCWMN WVRQAPGQGLEWMGRIFPGNGHTNYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARDYSDYYFDY WGQGTЛTVSS	36
S7AB-H4; S7AB-H5; и S7AB-H6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNCWMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPGNGHTNYAQKFQGRVTMT EDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCARDYSDYYFDY WGQGTЛTVSS	37
S7AB-H7; S7AB-H8; и S7AB-H9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYAFTNCWMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPGNGHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARDYSDYYFDY WGQGTЛTVSS	38
S7AB-H10; S7AB-H11; и S7AB-H12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYAFTNCWMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPGNGHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLLTVSS	39
S7AB-H8.1; S7AB-H8.6; S7AB-H8.11; S7AB-H8.16; S7AB-H8.21; S7AB-H8.26; S7AB-H8.31; S7AB-H8.36; и S7AB-H8.41	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTETWMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPLGHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARDYSDYYFDY WGQGTЛTVSS	40
S7AB-H8.2; S7AB-H8.7; S7AB-H8.12; S7AB-H8.17; S7AB-H8.22; S7AB-H8.27; S7AB-	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTMAWMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPGYHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARDYSDYYFDY WGQGTЛTVSS	41

H8.32; S7AB-H8.37; и S7AB-H8.42		
S7AB-H8.3; S7AB-H8.8; S7AB-H8.13; S7AB- H8.18; S7AB-H8.23; S7AB-H8.28; S7AB- H8.33; S7AB-H8.38; и S7AB-H8.43	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTGYWMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPLGHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLVTVSS	42
S7AB-H8.4; S7AB-H8.9; S7AB-H8.14; S7AB- H8.19; S7AB-H8.24; S7AB-H8.29; S7AB- H8.34; S7AB-H8.39; и S7AB-H8.44	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTAAMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPLGHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLVTVSS	43
S7AB-H8.5; S7AB-H8.10; S7AB-H8.15; S7AB- H8.20; S7AB-H8.25; S7AB-H8.30; S7AB- H8.35; S7AB-H8.40; и S7AB-H8.45	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTEAWMN WVRQAPGQGLEWIGRIFPGYHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLVTVSS	44
S7AB-H8.9.1; S7AB- H8.29.1; S7AB-H8.34.1; и S7AB-H8.44.1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTAAMN WVRQAPGQRLEWIGRIFPLGHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLVTVSS	45
S7AB-H8.9.2; S7AB- H8.29.2; S7AB-H8.34.2; и S7AB-H8.44.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTAAMN WVRQARGQRLEWIGRIFPLGHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLVTVSS	46
S7AB-H8.10.1; S7AB- H8.30.1; S7AB-H8.35.1; и S7AB-H8.45.1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTEAWMN WVRQAPGQRLEWIGRIFPGYHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLVTVSS	47
S7AB-H8.10.2; S7AB- H8.30.2; S7AB-H8.35.2; и S7AB-H8.45.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTEAWMN WVRQARGQRLEWIGRIFPGYHTNYAQKFQGRATLT EDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYSDYYFDY WGQGTLVTVSS	48

Таблица 11. Последовательности вариабельной области легкой цепи антител к Siglec-7

Аг	LCVR	SEQ NO:	ID
----	------	------------	----

S7AB-H1; S7AB-H4; S7AB-H7; и S7AB-H10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGT KLEIK	49
S7AB-H2; S7AB-H5; S7AB-H8; и S7AB-H11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGT KLEIK	50
S7AB-H3; S7AB-H6; S7AB-H9; и S7AB-H12	DVQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGT KLEIK	51
S7AB-H8.1; S7AB-H8.2; S7AB- H8.3; S7AB-H8.4; и S7AB-H8.5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRGSQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNLLPWTFGQGT KLEIK	52
S7AB-H8.6; S7AB-H8.7; S7AB- H8.8; S7AB-H8.9; S7AB-H8.9.1; S7AB-H8.9.2; S7AB-H8.10; S7AB-H8.10.1; и S7AB-H8.10.2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRGSQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTKPWTFGQGT KLEIK	53
S7AB-H8.11; S7AB-H8.12; S7AB-H8.13; S7AB-H8.14; и S7AB-H8.15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRGSQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGT KLEIK	54
S7AB-H8.16; S7AB-H8.17; S7AB-H8.18; S7AB-H8.19; и S7AB-H8.20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRGSQDTNTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGT KLEIK	55
S7AB-H8.21; S7AB-H8.22; S7AB-H8.23; S7AB-H8.24; и S7AB-H8.25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASEDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGGTLPWTFGQGT KLEIK	56
S7AB-H8.26; S7AB-H8.27; S7AB-H8.28; S7AB-H8.29; S7AB-H8.29,1; S7AB-H8.29,2; S7AB-H8.30; S7AB-H8.30,1; и S7AB-H8.30,2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDANTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNLLPWTFGQGT KLEIK	57
S7AB-H8.31; S7AB-H8.32; S7AB-H8.33; S7AB-H8.34; S7AB-H8.34,1; S7AB-H8.34,2;	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRGSQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGGTLPWTFGQGT	58

S7AB-H8.35; S7AB-H8.35,1; и S7AB-H8.35,2	KLEIK	
S7AB-H8.36; S7AB-H8.37; S7AB-H8.38; S7AB-H8.39; и S7AB-H8.40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRGSQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNVLPWTFGQGT KLEIK	59
S7AB-H8.41; S7AB-H8.42; S7AB-H8.43; S7AB-H8.44; S7AB-H8.44.1; S7AB-H8.44.2; S7AB-H8.45; S7AB-H8.45.1; и S7AB-H8.45.2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRGSQDINTYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNILPWTFGQGT KLEIK	60

Пример 4. Определение влияния Fc-области на интернализирующее антитело к Siglec-7

[00434] Целью этого примера была оценка влияния Fc на способность антитела Siglec-7 снижать уровень Siglec-7 на клеточной поверхности первичных миелоидных клеток *in vitro* и *in vivo*.

[00435] Fc-область антитела может взаимодействовать с Fcγ-рецепторами, экспрессируемыми на поверхности клеток, а миелоидные и другие иммунные клетки, которые эндогенно экспрессируют Siglec-7, также экспрессируют несколько Fcγ-рецепторов. Таким образом, было исследовано влияние взаимодействия различных изотипов человеческого IgG между Fc антитела и Fcγ-рецепторами на клеточной поверхности и влияние кластеризующей способности на способность антитела интернализировать рецептор.

[00436] Были получены антитела, содержащие вариабельную область S7AB-H8.44, и различные варианты IgG человека. Исследуемые Fc включали в IgG1, который связывает все Fcγ-рецепторы; IgG1 SELF, который содержит мутации S267E и L328F, и демонстрирует повышенное связывание с CD32B и вариантом R131 CD32A; IgG2, который в значительной степени связывается только с CD32A; IgG1 LALAPS, который содержит мутации L234A, L235A и P331S; и IgG1 N297A. Последние два варианта Fc практически не связываются ни с одним из Fcγ-рецепторов. Все пять антител оценивали на их способность снижать уровень Siglec-7 на клеточной поверхности первичных дендритных клеток человека в соответствии со способом, описанным в примере 2. Данные показаны на **Фиг. 4**, а в **таблице 12** приведены полумаксимальная эффективная концентрация (EC₅₀) и максимальное снижение уровней Siglec-7 при помощи антител.

Таблица 12. Снижение количества Siglec-7 на клеточной поверхности с применением вариантов Fc S7AB-H8.44

Антитело	Снижение количества рецепторов, (пМ, EC ₅₀)	Максимальное снижение количества (%) оставшегося Siglec-7)
huIgG1 S7AB-H8.44	33,6	1,0
huIgG2 S7AB-H8.44	43,8	2,8
huIgG1 SELF S7AB-H8.44	9,1	<0,1
huIgG1 LALAPS S7AB-H8.44	67,3	2,8

huIgG1 N297A S7AB-H8.44	68,6	2,9
-------------------------	------	-----

[00437] Антитела с различными вариантами Fc проявляли диапазон активности в своей способности снижать уровни Siglec-7 на поверхности дендритных клеток, при этом антитело, содержащее Fc IgG1 SELF, было наиболее активным, за ним следовало антитело с Fc IgG1 дикого типа, затем антитело с Fc IgG2. Две Fc, которые не связываются с Fcγ-рецепторами, проявляют самую слабую активность в снижении количества Siglec-7. Для всех вариантов Fc максимальное снижение количества Siglec-7 приводило к тому, что менее 5% Siglec-7 оставалось на поверхности клетки, хотя обработка IgG1 или IgG1 SELF приводила к меньшему количеству Siglec-7, оставшемуся на поверхности клетки, чем обработка IgG2, IgG1 LALAPS или IgG1 N297A. Эти данные предполагают, что как эффективность, так и максимальное снижение количества рецепторов антителом к Siglec-7 усиливается за счет взаимодействия антитела с одним или более Fcγ-рецепторами.

[00438] Варианты Fc S7AB-H8.44 также оценивали на их способность снижать уровни Siglec-7 на иммунных клетках *in vivo*. В одной серии экспериментов способность вариантов S7AB-H8.44 Fc снижать количество Siglec-7 *in vivo* оценивали на иммунокомпетентных мышах C57BL/6, трансгенных по Siglec-7 человека. Эти мыши экспрессируют Siglec-7 человека на миелоидных клетках, NK-клетках и CD8⁺ Т-клетках на уровнях, аналогичных наблюдаемым на иммунных клетках человека (данные не показаны). Мышам вводили однократную внутрибрюшинную инъекцию S7AB-H8.44 huIgG1, S7AB-H8.44 huIgG2, S7AB-H8.44 huIgG1 SELF, S7AB-H8.44 huIgG1 LALAPS, или контрольного антитела в дозе 10 мг/кг в 0-й день, а образцы крови собирали через 6 часов после введения дозы, на 2-й день, 7-й день и 14-й день, и обрабатывали для FACS-анализа.

[00439] Вкратце, образцы крови сначала инкубировали в течение 5 минут в лизирующем буфере ACK для лизиса эритроцитов, а затем тщательно промывали холодным буфером для FACS (PBS, 2% FBS, 2 мМ ЭДТА). Эту процедуру повторяли дважды. Затем клетки инкубировали в холодном буфере для FACS в присутствии антимышиного-CD3-Pacific Blue, антимышиного-NK1.1-APC-eFluor780, антимышиного-CD11b-PerCP-Cy5.5, антимышиного-Gr1-PE-Cy7, античеловеческого-CD33-PE, античеловеческого-Siglec-7-APC, и красителя для определения жизнеспособности клеток (ThermoFisher, № по каталогу L34957) в течение 30 минут на льду в присутствии раствора Fc Block, а затем дважды промывали холодным буфером для FACS. Клетки фиксировали 4% параформальдегидом в PBS. Окрашенные клетки пропускали через цитометр BD FACS Fortessa (Becton Dickinson, г. Сан-Хосе, штат Калифорния), и данные анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo (г. Ашленд, штат Орегон). Уровень экспрессии Siglec-7 определяли на популяции CD11b⁺ клеток, мышинных Gr1⁺ клеток и на мышинных NK1.1⁺ NK-клетках, а уровни Siglec-7 нормализовали к образцам от мышей, которым вводили дозу контрольного антитела.

[00440] Мышам, трансгенным по Siglec-7 человека, вводили однократную дозу S7AB-H8.44 huIgG1, S7AB-H8.44 huIgG2, S7AB-H8.44 huIgG1 SELF, или S7AB-H8.44 huIgG1 LALAPS, уровни Siglec-7 как на циркулирующих миелоидных клетках (**Фиг. 5A**), так и на циркулирующих NK-клетках (**Фиг. 5B**) были существенно снижены в течение 6 часов после введения дозы, при этом на NK-клетках осталось 0-2% рецепторов, а на миелоидных клетках осталось 6-29% рецепторов. В то время как уровни Siglec-7 на NK-клетках были максимально снижены через 6 часов, уровни Siglec-7 на миелоидных клетках продолжали снижаться через 6 часов и еще больше снизились через 48 часов. К 14-му дню уровни Siglec-7 вернулись к

контрольным уровням как на миелоидных клетках, так и на NK-клетках. Для всех четырех вариантов Fc антитела показана сходная кинетика и степень снижения и восстановления количества рецепторов, поскольку не наблюдали статистически значимых различий между группами дозирования.

[00441] В другой серии экспериментов использовали гуманизированных мышей NSG (hu-NSG). Мышей, которым прививали человеческие CD34⁺ гемопоэтические стволовые клетки, приобретали в Jackson Laboratory и использовали через 16 недель после прививки. Мышам вводили однократную внутривенную инъекцию S7AB-H8.44 huIgG1, S7AB-H8.44 huIgG2, или контрольного антитела в дозе 10 мг/кг на 0-й день, а образцы крови собирали через 2 часа после введения дозы, на 6-й день и 14-й день, и обрабатывали для FACS-анализа.

[00442] Вкратце, образцы крови сначала инкубировали в течение 5 минут в лизирующем буфере ACK для лизиса эритроцитов, а затем тщательно промывали холодным буфером для FACS (PBS, 2% FBS, 2 mM ЭДТА). Эту процедуру повторяли дважды. Затем клетки инкубировали в холодном буфере для FACS в присутствии античеловеческого-CD45-APC-eFluor780, антимишиного-CD45-FITC, античеловеческого-CD3-PE-Cy7, античеловеческого-CD14-Pacific Blue, античеловеческого-CD11b-PerCP-Cy5.5, античеловеческого-CD33-PE, античеловеческого-Siglec-7-APC, и красителя для определения жизнеспособности клеток (ThermoFisher, № по каталогу L34957) в течение 30 минут на льду в присутствии раствора Fc Block, а затем дважды промывали холодным буфером для FACS. Клетки фиксировали 4% параформальдегидом в PBS. Окрашенные клетки пропускали через цитометр BD FACS Fortessa (Becton Dickinson, г. Сан-Хосе, штат Калифорния), и данные анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo (г. Ашленд, штат Орегон). Уровень экспрессии Siglec-7 определяли в популяции huCD45⁺huCD14⁺ клеток, а уровни Siglec-7 нормализовали к образцам от мышей, которым вводили дозу контрольного антитела.

[00443] У мышей hu-NSG, которым вводили однократную дозу S7AB-H8.44 huIgG1 или S7AB-H8.44 huIgG2, уровни Siglec-7 в циркулирующих миелоидных клетках были существенно снижены в течение 2 часов в обеих группах лечения, как показано на **Фиг. 6**, и это снижение сохранялось в течение по меньшей мере 6 дней после введения доз. К 14 дню уровни Siglec-7 в обеих группах лечения восстановились до уровней, близких к уровням у мышей, получавших контрольные антитела. Изоотипы IgG1 человека и IgG2 человека приводили к сходной кинетике и степени снижения количества Siglec-7 у гуманизированных мышей NSG, поскольку различия между группами не были статистически значимыми.

[00444] Наблюдение, что S7AB-H8.44 IgG1, изотип, который взаимодействует с Fcγ-рецепторами, демонстрирует кинетику снижения и восстановления количества Siglec-7 *in vivo* аналогично кинетике изотипов IgG2 и IgG1 LALAPS, которые имеют существенно сниженное связывание с Fcγ-рецептором или не имеют его, было неожиданным, так как *in vitro* активность в отношении снижения количества Siglec-7 вариантами Fc S7AB-H8.44 была связана с силой взаимодействия антител с Fcγ-рецепторами. Таким образом, антитело AB-H8.44 способно снижать количество Siglec-7 *in vivo* на нескольких изотипах.

Пример 5: активность AЗКЦ антитела к Siglec-7, имеющего различные варианты Fc

[00445] Целью этого примера была оценка способности вариантов Fc антитела S7AB-H8.44 индуцировать AЗКЦ (антитело-зависимую клеточную цитотоксичность) на клетках, экспрессирующих Siglec-7. Было показано, что AЗКЦ сильно зависит от взаимодействия между Fc-областью антитела и Fcγ-рецепторами, экспрессируемыми на эффекторных клетках.

[00446] Четыре различных варианта человеческой Fc антитела S7AB-H8.44 были оценены на АЗКЦ: IgG1 дикого типа, IgG2, IgG1 SELF и IgG1 LALAPS. АЗКЦ исследовали с использованием двух различных клеточных линий-мишеней, клеток HL60 и клеток U937. Как клетки HL60, так и клетки U937 экспрессируют Siglec-7, при этом клетки U937 экспрессируют Siglec-7 на более высоких уровнях, чем клетки HL60 (данные не показаны). Анализ АЗКЦ проводили с использованием ADCC Reporter Bioassay (Promega) в соответствии с инструкциями производителя, используя три различных соотношения эффектор: мишень, 6:1, 10:1 и 25:1. Вкратце, клетки-мишени сначала опсонизировали антителами к Siglec-7 в концентрации 10 мкг/мл, после чего добавляли эффекторные клетки и инкубировали в течение 6 часов при 37 °C с 5% CO₂. Активность АЗКЦ определяли количественно, добавляя реагент для анализа люциферазы, и планшет считывали на люминиметре (Biotek). В качестве положительного контроля в анализ было включено антитело к CD33, клон 280-31-01(mut), описанный в WO2012/045752, который, как было показано, имеет высокую активность АЗКЦ. Как клетки HL60, так и клетки U937 экспрессируют CD33 на более низких уровнях, чем Siglec-7 (данные не показаны). Результаты анализа АЗКЦ показаны на **Фиг. 7**.

[00447] Как на клетках HL60, так и на клетках U937 и при всех трех соотношениях эффектор: мишень антитело положительного контроля индуцировало АЗКЦ. Неожиданно ни одно из антител к Siglec-7 не индуцировало активность АЗКЦ выше фоновых уровней, включая антитело с Fc IgG1 дикого типа, изотип которого, как было показано, индуцирует мощную АЗКЦ для многих антител.

Пример 6: Активность КЗЦ антитела к Siglec-7 с различными вариантами Fc

[00448] Целью этого примера была оценка способности вариантов Fc антитела S7AB-H8.44 индуцировать КЗЦ (комплемент-зависимую цитотоксичность) на клетках, экспрессирующих Siglec-7. КЗЦ инициируется мишенью, опсонизируемой антителом, которое может эффективно связывать и активировать комплемент через его Fc-область. Таким образом, способность антитела индуцировать КЗЦ зависит от его изотипа: IgG1 человека и IgG1 SELF, как правило, надежно индуцируют КЗЦ, тогда как IgG2 и IgG1 LALAPS, как правило, слабее индуцируют КЗЦ.

[00449] Пять различных вариантов Fc антитела S7AB-H8.44 оценивали на способность индуцировать КЗЦ: человеческий IgG1 дикого типа, человеческий IgG2, человеческий IgG1 SELF, человеческий IgG1 LALAPS и человеческий IgG1 N297A. Потенциал в отношении КЗЦ был определен путем измерения активации комплемента, отложения C3b, на линии экспрессирующих Siglec-7 клеток U937. Вкратце, клетки U937 инкубировали с 10 мкг/мл антител к Siglec-7 в течение 30 минут на льду. Объединенные сыворотки крови человека с комплементом (Innovative Research) добавляли до конечной концентрации 20% и клетки инкубировали в течение 2 часов при 37°C. Клетки промывали один раз холодным буфером для FACS (PBS, 2% FBS, 2 mM ЭДТА), а затем инкубировали с анти-C3b-APC и с красителем для определения жизнеспособности клеток (ThermoFisher, № по каталогу L34957) в течение 30 минут на льду в присутствии раствора Fc Block. Клетки дважды промывали холодным буфером для FACS, а затем фиксировали 4% параформальдегидом в PBS. Окрашенные клетки пропускали через цитометр BD FACS Fortessa (Becton Dickinson, г. Сан-Хосе, штат Калифорния), и данные анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo (г. Ашленд, штат Орегон). Уровень отложения C3b определяли по СИФ C3b на клетках U937, и отложение нормализовали к образцам из клеток, обработанных контрольным антителом. Результаты показаны на **Фиг. 8**.

[00450] Неожиданно оказалось, что из протестированных вариантов Fc S7AB-H8.44 только изотип IgG1 N297A индуцировал значительно повышенную активацию комплемента по сравнению с контрольным антителом. Ни изотип IgG1, ни изотип IgG1 SELF не индуцировали активность КЗЦ выше фоновых уровней.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

1. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

HVR-H1, содержащую последовательность в соответствии с формулой I: GYAFTX₁X₂WMN (SEQ ID NO: 6), где X₁ представляет собой E, M, G или A и X₂ представляет собой T, A или Y;

HVR-H2, содержащую последовательность в соответствии с формулой II: RIFPGX₁GHTN (SEQ ID NO: 9), где X₁ представляет собой L или Y; и

HVR-H3, содержащую последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10); и

переменная область легкой цепи содержит:

HVR-L1, содержащую последовательность в соответствии с формулой III: RX₁SX₂DX₃NTYLN (SEQ ID NO: 15), где X₁ представляет собой G или A, X₂ представляет собой Q или E и X₃ представляет собой I, T или A;

HVR-L2, содержащую последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16); и

HVR-L3, содержащую последовательность в соответствии с формулой IV: QX₁GX₂X₃X₄PWT (SEQ ID NO: 24), где X₁ представляет собой Q или G, X₂ представляет собой N или G, X₃ представляет собой L, T, V или I и X₄ представляет собой L или K.

2. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1–5;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7–8; и

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и

переменная область легкой цепи содержит:

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11–14;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17–23.

3. Антитело по любому из пп. 1–2, отличающееся тем, что

- (a) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность GYAFTMAWMN (SEQ ID NO: 2),
- HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIFPGYGHTN (SEQ ID NO: 8),
- HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10),

- HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16) и HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность QQGNLLPWT (SEQ ID NO: 17);
- (b) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 12), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16) и HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20);
- (c) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16) и HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23);
- или
- (d) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность GYAFTAAWMN (SEQ ID NO: 4), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16) и HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

4. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что указанное антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом: переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTMAWMN (SEQ ID NO: 2), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGYGHTN (SEQ ID NO: 8), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNLLPWT (SEQ ID NO: 17).

5. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что указанное антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом: переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), а переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 12), HVR-L2, содержащую

аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 20).

6. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что указанное антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом: переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTGYWMN (SEQ ID NO: 3), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), а переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

7. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что указанное антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом: переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GYAFTAAWMN (SEQ ID NO: 4), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIFPGLGHTN (SEQ ID NO: 7), и HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность DYSDYYFDY (SEQ ID NO: 10), а переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RGSQDINTYLN (SEQ ID NO: 11), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO: 16), и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQGNILPWT (SEQ ID NO: 23).

8. Антитело по любому из пп. 1–7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 36–48; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 49–60.

9. Антитело по п. 8, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55; переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

10. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52.

11. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.
12. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.
13. Антитело, которое связывается с белком Siglec-7, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.
14. Антитело по любому из пп. 1–13, отличающееся тем, что антитело относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA.
15. Антитело по п. 14, отличающееся тем, что антитело относится к классу IgG и имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.
16. Антитело по п. 15, отличающееся тем, что
- (a) Fc-область содержит аминокислотную замену в положении P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU;
 - (b) Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях L234A, L235A и P331S, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU;
 - (c) Fc-область содержит аминокислотную замену в положении N297A, при этом нумерация положения остатка соответствует нумерации EU; или
 - (d) Fc-область содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU.
17. Антитело по любому из пп. 1–16, отличающееся тем, что белок Siglec-7 представляет собой белок отличного от человека примата или белок человека.
18. Антитело по любому из пп. 1–17, отличающееся тем, что белок Siglec-7 представляет собой белок дикого типа.
19. Антитело по любому из пп. 1–17, отличающееся тем, что белок Siglec-7 представляет собой встречающийся в природе вариант.
20. Антитело по любому из пп. 1–19, отличающееся тем, что белок Siglec-7 экспрессируется на одной или более клетках, выбранных из группы, состоящей из дендритных клеток человека, макрофагов человека, моноцитов человека, остеокластов человека, нейтрофилов человека, естественных клеток-киллеров (NK) человека, Т-клеток человека, Т-хелперов человека, цитотоксических Т-клеток человека, гранулоцитов человека и микроглии человека.
21. Антитело по любому из пп. 1–20, отличающееся тем, что антитело специфически связывается с белком Siglec-7 человека.

22. Антитело по любому из пп. 1–19, отличающееся тем, что антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки на белке Siglec-7 отличного от человека примата или на белке Siglec-7 человека.
23. Антитело по любому из пп. 1–21, отличающееся тем, что антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с одним или более белками человека, выбранными из группы, состоящей из Siglec-7 человека, встречающегося в природе варианта Siglec-7 человека и связанного с заболеванием варианта Siglec-7 человека.
24. Антитело по п. 23, отличающееся тем, что фрагмент антитела сшит со вторым фрагментом антитела, который связывается с одним или более белками человека, выбранными из группы, состоящей из Siglec-7 человека, встречающегося в природе варианта Siglec-7 человека и связанного с заболеванием варианта Siglec-7 человека.
25. Антитело по любому из пп. 22–24, отличающееся тем, что фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, или scFv.
26. Антитело по любому из пп. 1–25, отличающееся тем, что антитело представляет собой гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело.
27. Антитело по любому из пп. 1–26, отличающееся тем, что антитело представляет собой моноклональное антитело.
28. Антитело по любому из пп. 1–26, отличающееся тем, что антитело представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген.
29. Антитело по п. 28, отличающееся тем, что первый антиген представляет собой Siglec-7, а второй антиген представляет собой:
- (а) лиганд и/или белок, экспрессируемый на иммунных клетках, при этом лиганд и/или белок выбран из группы, состоящей из CD33, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR5, CD39, CD70, CD73, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, CSF1-рецептора и фосфатидилсерина; или
 - (б) белок, липид, полисахарид или гликолипид, экспрессируемые на одной или более опухолевых клетках.
30. Антитело по любому из пп. 1–29, отличающееся тем, что антитело применяют в комбинации с одним или более антителами, которые связывают иммуномодулирующий белок, выбранный из группы, состоящей из: CD33, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD38, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR3, DR5, CD39, CD70, CD73, LAG3, TREM1, TREM2, Siglec-5, Siglec-9, Siglec-11, SirpA, CD47, CSF1-рецептора, фосфатидилсерина, патологических нуклеиновых кислот, антисмысловой РНК с экспансией GGCCCC-повтора (G2C4) и любой их комбинации.
31. Антитело по любому из пп. 1–7, отличающееся тем, что антитело имеет константу диссоциации (K_D) в отношении Siglec-7 человека, которая в по меньшей мере 4 раза ниже, чем у антитела к Siglec-7,

содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; или в по меньшей мере 1 раз ниже, чем у антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, при этом K_D определяют с помощью биослойной (BioLayer) интерферометрии.

32. Антитело по любому из пп. 1–7, отличающееся тем, что антитело имеет константу диссоциации (K_D) в отношении Siglec-7 человека, которая находится в диапазоне от около 124 нМ до около 1 пМ, или менее около 1 пМ, и при этом K_D определяют с помощью биослойной интерферометрии.

33. Антитело по любому из пп. 1–7, отличающееся тем, что антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности.

34. Антитело по п. 33, отличающееся тем, что Siglec-7 экспрессируется на поверхности дендритных клеток человека.

35. Антитело по п. 33 или п. 34, отличающееся тем, что антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro*.

36. Антитело по любому из пп. 33–35, отличающееся тем, что антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro* с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая составляет менее 150 пМ по данным измерения с помощью проточной цитометрии.

37. Антитело по любому из пп. 33–36, отличающееся тем, что антитело снижает уровни Siglec-7 на клеточной поверхности *in vitro* с EC_{50} , которая на по меньшей мере 50 % ниже, чем у антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; или на по меньшей мере 10% ниже, чем у антитела к Siglec-7, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, по данным измерения с помощью проточной цитометрии.

38. Антитело по п. 33, отличающееся тем, что уровни Siglec-7 на клеточной поверхности снижены до по меньшей мере 20%.

39. Антитело по п. 38, отличающееся тем, что антитело в по меньшей мере 4,2 раза более активно, чем антитело к Siglec-7, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; или в по меньшей мере в 1,4 раза более активно, чем антитело к Siglec-7, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, по данным измерения с помощью проточной цитометрии.

40. Антитело по любому из пп. 1–39, отличающееся тем, что антитело конкурирует с антителом, содержащим переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи из антитела, выбранного из группы, состоящей из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1, S7AB-H8.45.2 и любой их комбинации, в отношении связывания с Siglec-7.

41. Антитело по любому из пп. 1–40, отличающееся тем, что антитело связывает по существу тот же эпитоп Siglec-7, что и антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи из антитела, выбранного из группы, состоящей из S7AB-H1, S7AB-H2, S7AB-H3, S7AB-H4, S7AB-H5, S7AB-H6, S7AB-H7, S7AB-H8, S7AB-H9, S7AB-H10, S7AB-H11, S7AB-H12, S7AB-H8.1, S7AB-H8.2, S7AB-H8.3, S7AB-H8.4, S7AB-H8.5, S7AB-H8.6, S7AB-H8.7, S7AB-H8.8, S7AB-H8.9, S7AB-H8.10, S7AB-H8.11, S7AB-H8.12, S7AB-H8.13, S7AB-H8.14, S7AB-H8.15, S7AB-H8.16, S7AB-H8.17, S7AB-H8.18, S7AB-H8.19, S7AB-H8.20, S7AB-H8.21, S7AB-H8.22, S7AB-H8.23, S7AB-H8.24, S7AB-H8.25, S7AB-H8.26, S7AB-H8.27, S7AB-H8.28, S7AB-H8.29, S7AB-H8.30, S7AB-H8.31, S7AB-H8.32, S7AB-H8.33, S7AB-H8.34, S7AB-H8.35, S7AB-H8.36, S7AB-H8.37, S7AB-H8.38, S7AB-H8.39, S7AB-H8.40, S7AB-H8.41, S7AB-H8.42, S7AB-H8.43, S7AB-H8.44, S7AB-H8.45, S7AB-H8.9.1, S7AB-H8.9.2, S7AB-H8.10.1, S7AB-H8.10.2, S7AB-H8.29.1, S7AB-H8.29.2, S7AB-H8.30.1, S7AB-H8.30.2, S7AB-H8.34.1, S7AB-H8.34.2, S7AB-H8.35.1, S7AB-H8.35.2, S7AB-H8.44.1, S7AB-H8.44.2, S7AB-H8.45.1 и S7AB-H8.45.2.

42. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело по любому из пп. 1–41.

43. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 42.

44. Выделенная клетка-хозяин, содержащая вектор по п. 43.

45. Способ получения антитела, которое связывается с Siglec-7, включающий культивирование клетки по п. 44 таким образом, чтобы продуцировалось антитело.

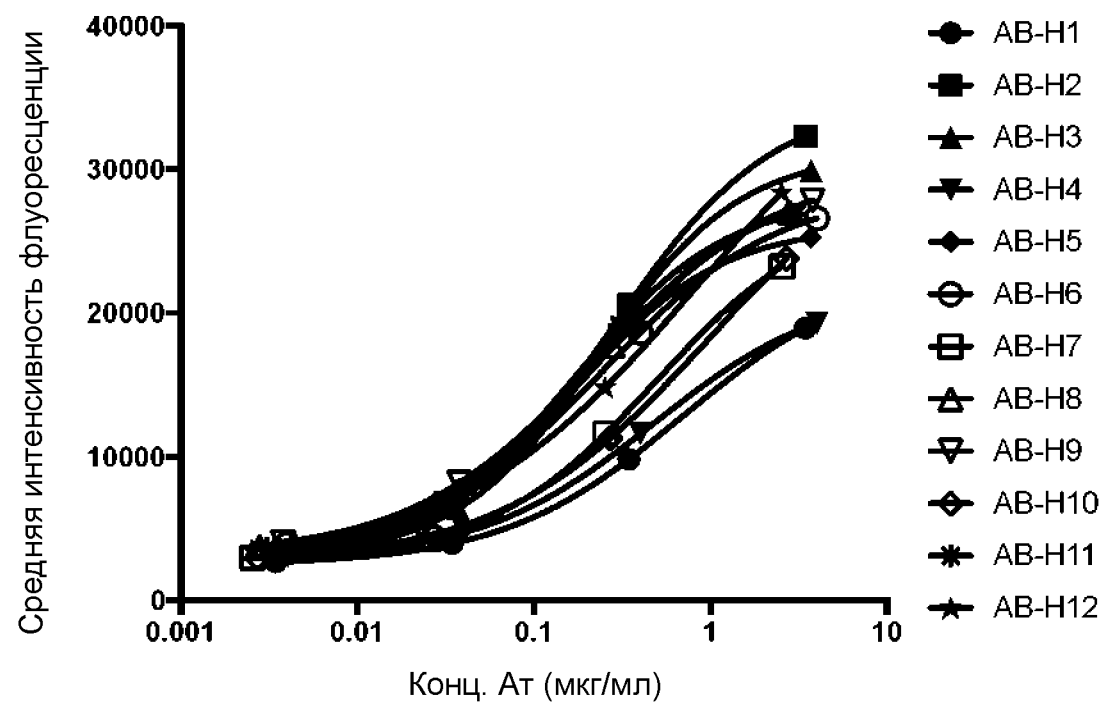
46. Способ по п. 45, дополнительно включающий выделение антитела, продуцируемого клеткой.

47. Выделенное антитело, которое связывается с Siglec-7, полученное при помощи способа по п. 45 или п. 46.

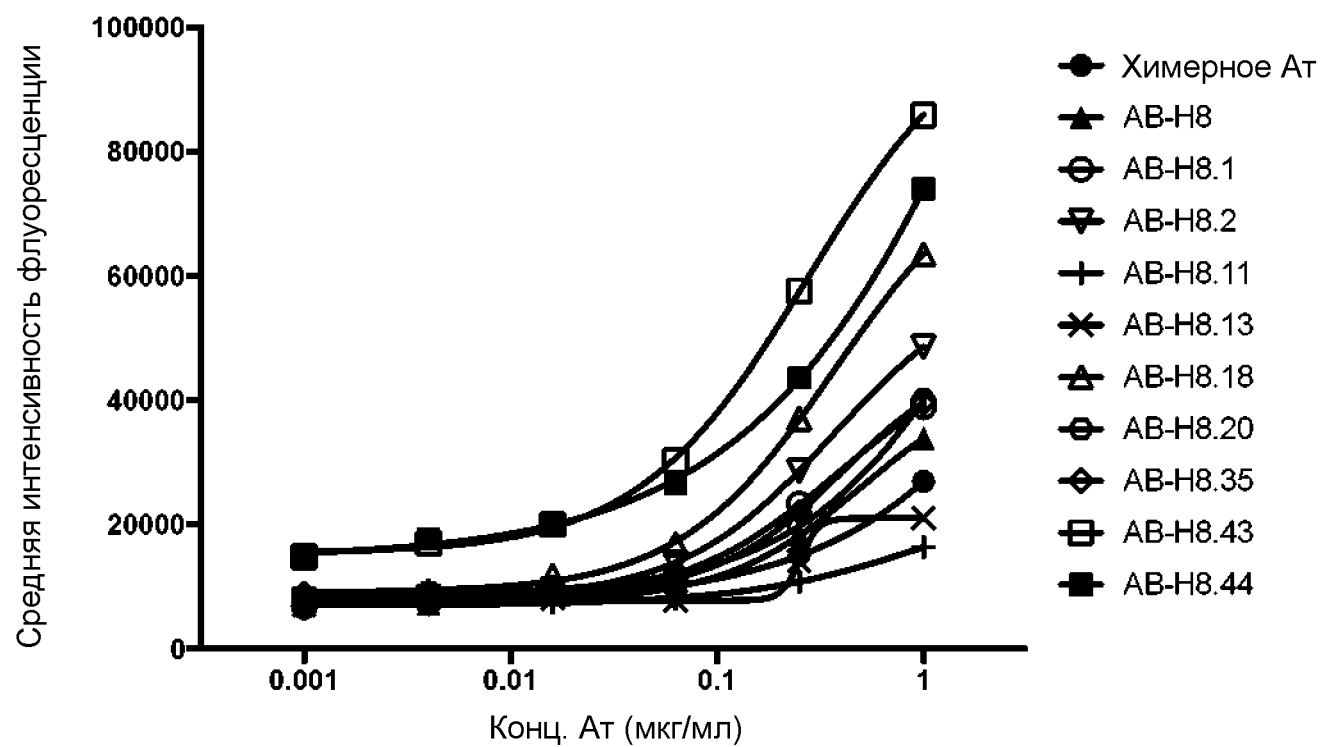
48. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1–41 и фармацевтически приемлемый носитель.

49. Способ предотвращения, снижения риска появления или лечения злокачественного новообразования, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1–41.

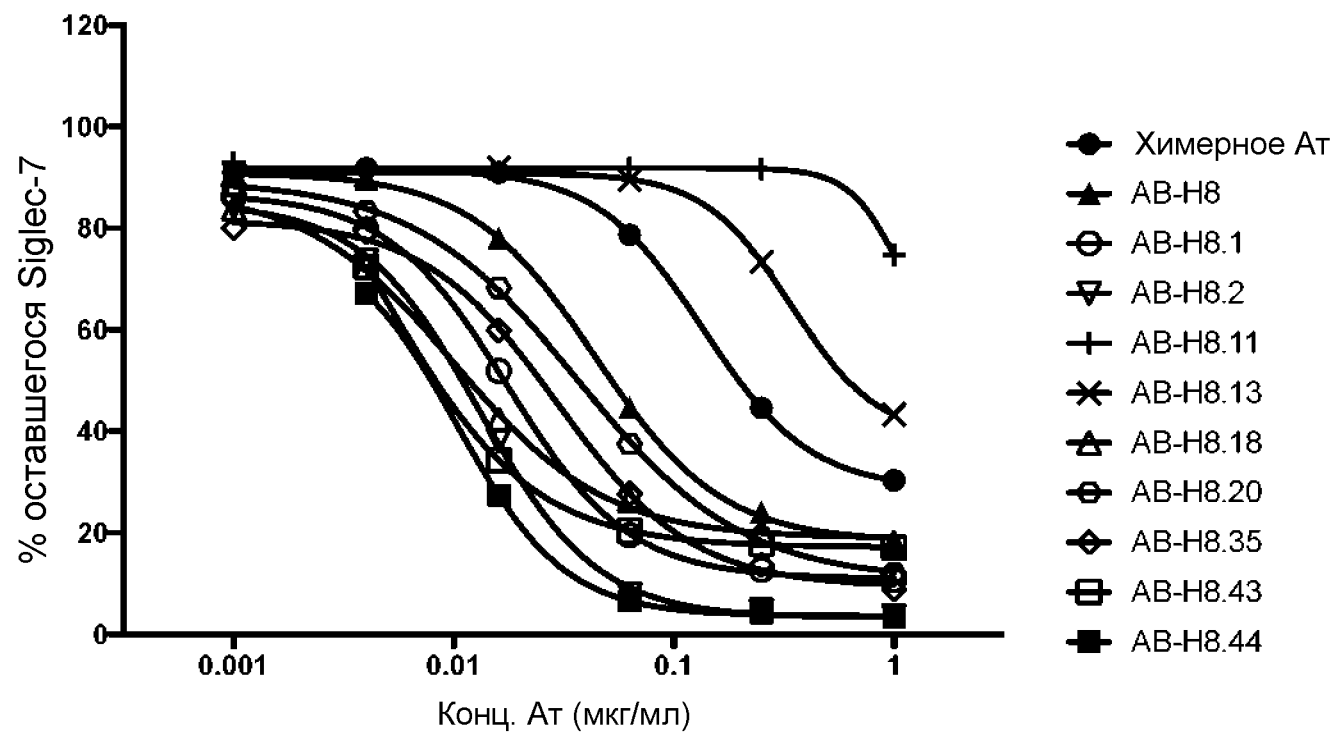
50. Способ по п. 49, отличающийся тем, что злокачественное новообразование выбрано из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака эндометрия, рака почки, почечно-клеточного рака, рака лоханки почки, лейкоза, рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, фибросаркомы, острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) и множественной миеломы.



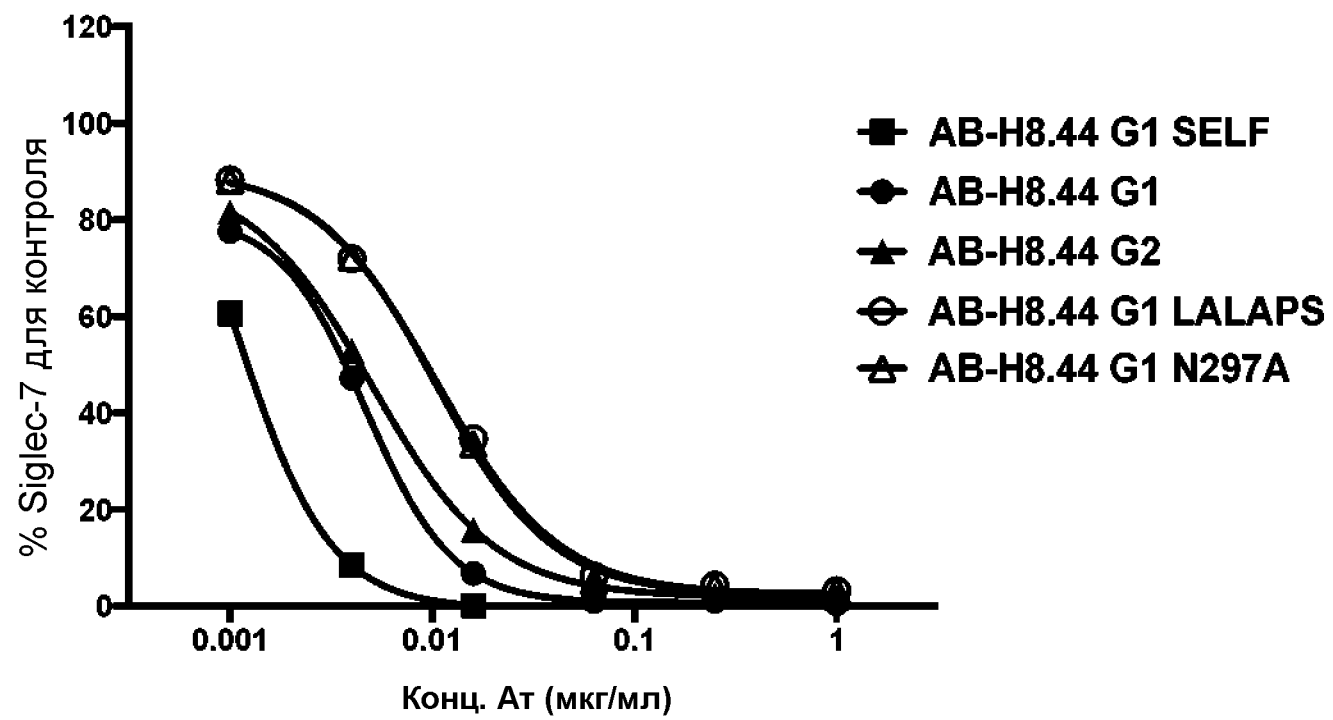
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

Фиг. 5А

Миелоидные клетки

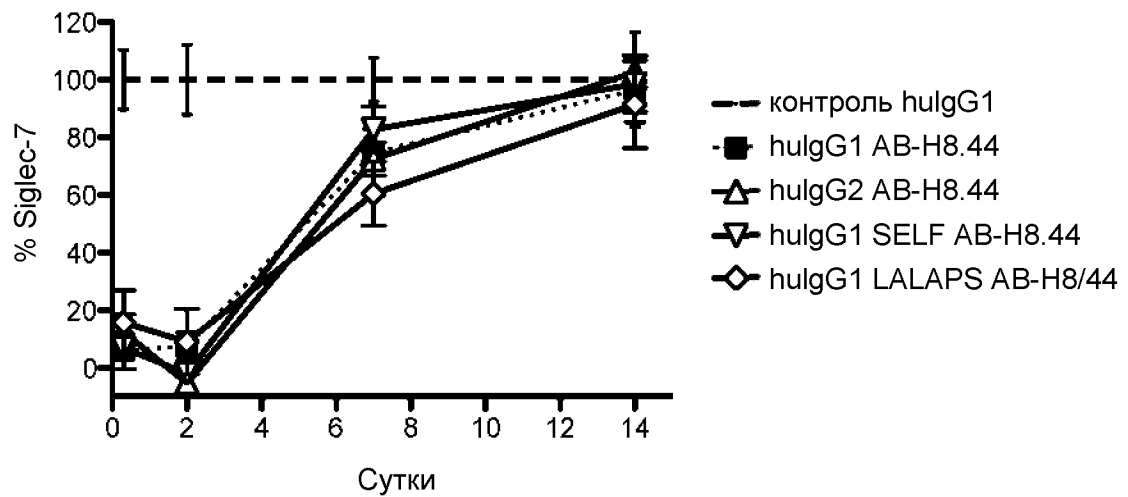
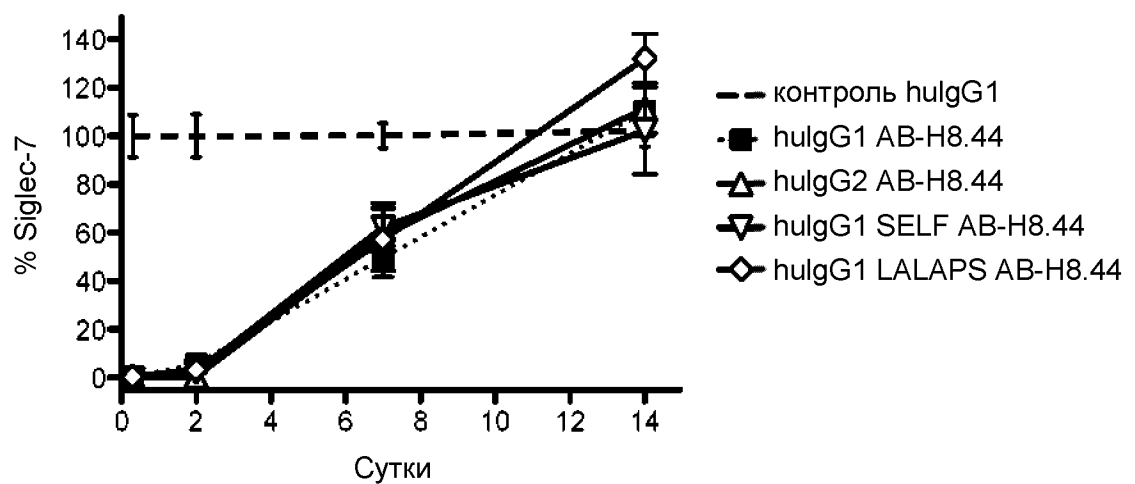
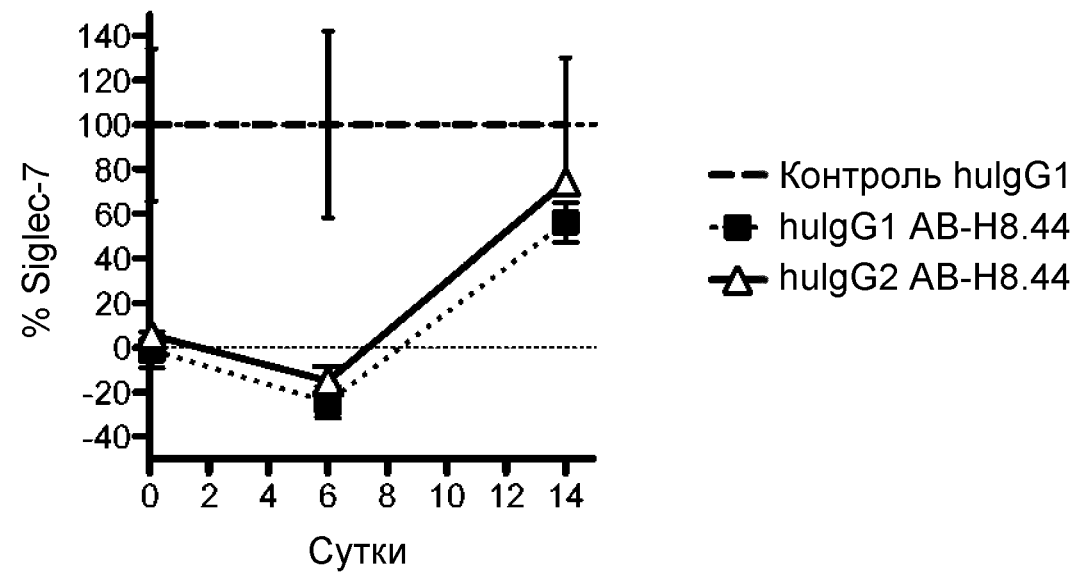


FIG.5B

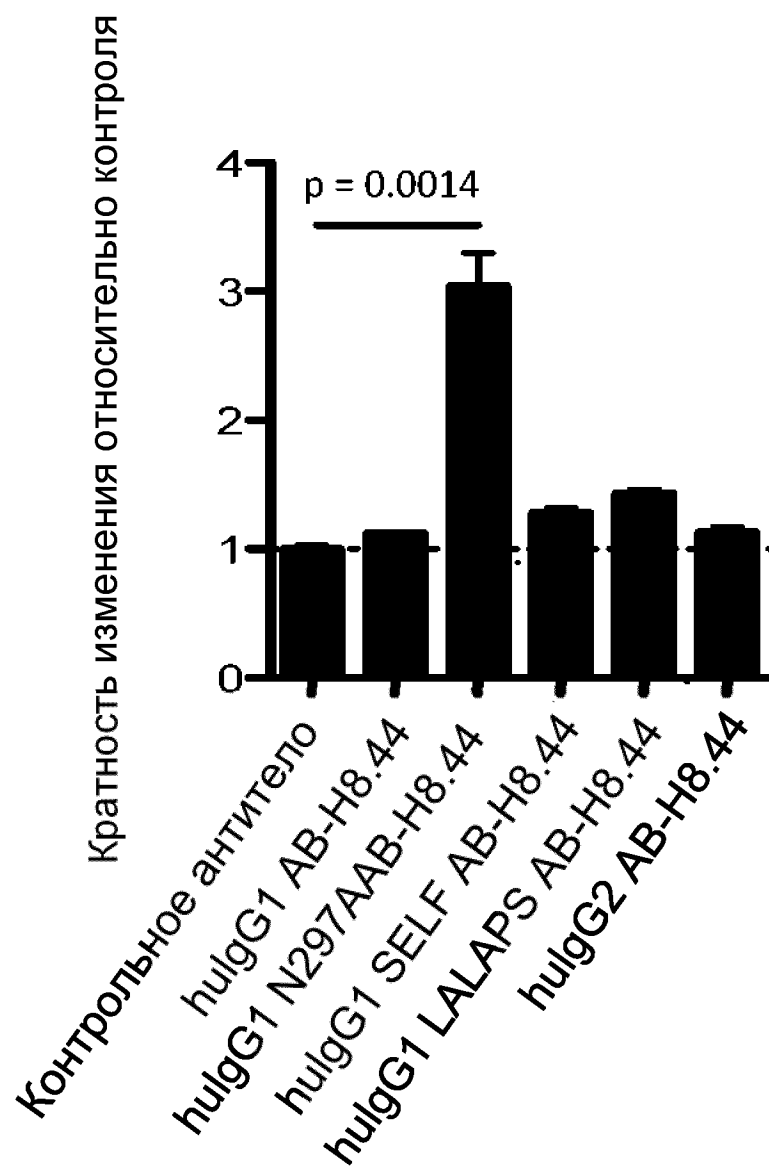
NK-клетки





Фиг. 6





Фиг. 8