(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202092933 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.03.01

(22) Дата подачи заявки
2019.05.29

(51) Int. Cl. ***A61K 39/395*** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА К ENTPD2, ВИДЫ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ И ВИДОВ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

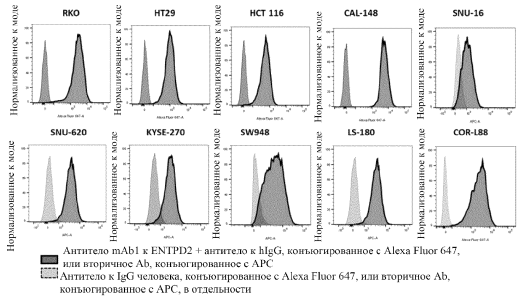
(31) **62/677,850**
(32) **2018.05.30**
(33) **US**
(86) **PCT/IB2019/054422**
(87) **WO 2019/229658 2019.12.05**

(71) Заявитель:
НОВАРТИС АГ (CH)

(72) Изобретатель:
Дидонато Майкл (US), Эркель Кристоф (DE), Галкин Анна, Глэйзер Скотт Мартин (US), Хартлепп Клаус Феликс (DE), Цзя Юн (US), Краус Александра (DE), Ли Кристиан Чо-Хуа, Руэ Сара Мишель, Ши Цзянь (US), Вецлер Ксения Карола (DE)

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

(57) В данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, например моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека), а также способы применения этих антител или антигенсвязывающих фрагментов. Настоящее изобретение также относится к видам комбинированной терапии, предусматривающим антитело к ENTPD2 человека или антигенсвязывающий фрагмент и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство, а также к способам применения этих видов комбинированной терапии.



202092933 A1

202092933 A1

Таблица 20. Плотность экспрессии ENTPD2 в различных иллюстративных линиях раковых клеток

Линия клеток	Источник	Показание	Плотность рецепторов
CAL-148	DSMZ (Германия)	Аденокарцинома молочной железы	111726
COR-L88	ECACC (Велико-британия)	Мелкоклеточный рак легкого	90000
RKO	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	51203
LS-180	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	44708
SW948	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	41576
HT29	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	28337
KYSE-270	DSMZ (Германия)	Рак пищевода	28273
SNU-620	KCLB (Южная Корея)	Аденокарцинома желудка	19646
HCT 116	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	18697
SNU-16	ATCC (Манассас, Виргиния)	Карцинома желудка	12763

202092933 A1

202092933 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-565676EA/022

АНТИТЕЛА К ENTPD2, ВИДЫ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ И ВИДОВ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает преимущество по предварительной заявке на патент США № 62/677850, поданной 30 мая 2018 г., содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

В настоящем изобретении предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, например, моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эктоферментом эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазой 2 (ENTPD2), и способы применения этих антител или антигенсвязывающих фрагментов.

Настоящее изобретение также относится к видам комбинированной терапии, предусматривающим антитело к ENTPD2 человека или его антигенсвязывающий фрагмент и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Указанная копия в формате ASCII, созданная 5 апреля 2019 г., имеет название PAT058145-WO-PCT_SL.txt, и ее размер составляет 635873 байта.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Клеточный стресс и апоптоз инициируют высвобождение ATP во внеклеточное пространство. Увеличение концентрации ATP содействует быстрому развитию воспаления, что приводит к усилению передачи сигнала в Т-клетках, ингибированию регуляторных Т-клеток (Treg) и содействию активации инфламмасом в дендритных клетках и макрофагах. Эктофермент эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 2 (ENTPD2) является членом семейства эктонуклеозидаз, которые гидролизуют 5'-трифосфаты, и представляет собой интегральный мембранный белок, который участвует в пуринергической передаче сигнала. ENTPD2 катализирует превращение аденозинтрифосфата (ATP) в аденозиндифосфат (ADP) и аденозинмонофосфат (AMP). В свою очередь, превращение AMP в аденозин катализируется кластером дифференцировки 73 (CD73), также известным как экто-5'-нуклеотидаза (экто-5'-NT). Молекула AMP взаимодействует с несколькими рецепторами, в том числе аденозиновыми рецепторами A1, A2A, A2B и A3. Рецептор A2A получил особое внимание ввиду его обширной экспрессии на иммунных клетках. AMP характеризуется плейотропными эффектами в микроокружении опухоли, включающими размножение регуляторных Т-клеток (Treg), ингибирование ответов с участием эффекторных Т-клеток (Teff), опосредованных интерфероном (IFN)-γ, и размножение супрессорных клеток миелоидного происхождения

(MDSC). См., например, Allard B, et al., Curr Opin Pharmacol 29:7-16 (2016) и Allard D, et al., Immunotherapy 8:145-163 (2016).

В мышиной модели гепатоцеллюлярной карциномы было показано, что ENTPD2 обеспечивает превращение внеклеточного ATP в AMP, который предотвращает дифференцировку моноцитарных супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) в дендритные клетки, содействуя таким образом поддержанию численности MDSC in vitro и in vivo (Chiu et al., Nat Commun. 8:517-28 (2017).

ENTPD2 экспрессируется на раковых клетках, как описано в данном документе. Новые композиции и способы для регуляции активности ENTPD2 и соответствующие терапевтические средства являются весьма желательными.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, например, моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эктоферментом эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазой 2 (ENTPD2). Антитела к ENTPD2 или их антигенсвязывающие фрагменты применимы для лечения заболеваний, ассоциированных с ENTPD2, таких как рак.

В одном аспекте в данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с белком ENTPD2 человека, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат область 1, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR1), область 2, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR2), область 3, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR3), область 1, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR1), область 2, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR2) и область 3, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR3) из любого антитела или антигенсвязывающего фрагмента, приведенных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 из таких антител или антигенсвязывающих фрагментов выбраны из последовательностей HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, приведенных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления такие антитела или антигенсвязывающие фрагменты содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), приведенную в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления такие антитела или антигенсвязывающие фрагменты содержат вариабельную область легкой цепи (VL), приведенную в таблице 1.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела или антигенсвязывающие фрагменты, выбранные из любого из следующих:

1) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:

последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 1,

последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 2,

последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 3,

последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 14,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 15, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
2) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 4,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 5,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 3,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 19;
3) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 7,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 8,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 9,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
4) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 38,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 50,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
5) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 41,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 53,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
6) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 44,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 45,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 56,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
7) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,

последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 38,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 61,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
8) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 41,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 62,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
9) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 44,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 45,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 63,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
10) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 38,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 50,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
11) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 41,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 53,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
12) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 44,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 69,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 56,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;

13) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 82,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 83,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 84,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 95,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 96, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 97;
14) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 85,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 86,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 84,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 98,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 100;
15) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 88,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 89,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 90,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 101,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 97;
16) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 106,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 107,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 119,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 120, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
17) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 109,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 110,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 122,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 123;
18) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 112,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 113,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 114,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 124,

последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
19) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 106,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 129,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 119,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 120, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
20) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 109,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 130,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 122,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 123;
21) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 112,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 131,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 114,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 124,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
22) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 136,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 137,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 138,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 149,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 150, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 151;
23) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 139,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 140,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 138,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 152,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 154;
24) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 142,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 143,

последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 144,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 155,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 151;
25) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 160,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 161,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 162,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 173,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 150, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 174;
26) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 163,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 164,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 162,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 175,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 176;
27) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 166,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 167,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 168,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 177,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 174;
28) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 220,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 221,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 61,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
29) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 222,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 221,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 62,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
30) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:

последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 223,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 224,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 63,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
31) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 220,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 61,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
32) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 222,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 62,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
33) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 223,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 69,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 63,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
34) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 1,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 245,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 246,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 254,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 15, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 255;
35) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 4,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 247,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 246,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и

последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 256;
36) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 7,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 248,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 249,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 255;
37) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 1,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 261,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 262,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 254,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 15, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
38) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 4,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 247,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 262,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 19;
39) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 7,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 248,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 263,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
40) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 272,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 273,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 274,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 254,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 285, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
41) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 275,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 276,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 274,

последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 286, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 19;
42) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 278,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 279,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 280,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 286, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела или антигенсвязывающие фрагменты, выбранные из любого из следующих:

1) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 10 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 21 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

2) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 25 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 29 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

3) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 33 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 29 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

4) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 46 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 57 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

5) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 46 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 64 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

6) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 70 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 74 или

последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

7) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 25 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 78 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

8) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 91 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 102 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

9) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 115 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 125 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

10) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 132 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 125 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

11) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 145 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 156 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

12) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 169 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 178 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

13) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 225 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 229 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

14) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 233 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 237 или

последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

15) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 241 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 229 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

16) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 250 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 257 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

17) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 264 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 268 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей; или

18) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 281 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 287 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела или антигенсвязывающие фрагменты, выбранные из любого из следующих:

1) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 12 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 23 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

2) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 31 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

3) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 35 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 31 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

4) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 48 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 59 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

5) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 48 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 66 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

6) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 72 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 76 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

7) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 80 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

8) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 93 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 104 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

9) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 117 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 127 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

10) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 134 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 127 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

11) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 147 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 158 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

12) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 171 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 180 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

13) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 227 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 231 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

14) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 235 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 239 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

15) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 243 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 231 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

16) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 252 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 259 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

17) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 266 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 270 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей; или

18) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 283 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 289 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей.

В данном документе также предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять, по меньшей мере одиннадцать, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере тринадцать, по меньшей мере четырнадцать, по меньшей мере пятнадцать, по меньшей мере двадцать) из следующих остатков: His50, Asp76, Pro78, Gly79, Gly80, Tyr85, Asp87, Asn88, Gly91, Gln94, Ser95, Gly98, Glu101, Gln102, Gln105, Asp106, Arg245, Thr272, Gln273, Leu275, Asp278, Arg298, Ala347, Ala350, Thr351, Arg392, Ala393, Arg394 или Tyr398.

В данном документе также предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять, по меньшей мере одиннадцать, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере тринадцать, по меньшей мере четырнадцать, по меньшей мере пятнадцать, по меньшей мере двадцать) из следующих остатков: Gly79, Gln250, Leu253, Trp266, Arg268, Gly269, Phe270, Ser271, Thr272, Gln273, Val274, Leu275, Asp278, Arg298, Ser300, Ser302, Gly303, Thr380, Trp381, Ala382, Gly390, Gln391, Arg392, Ala393, Arg394 или Asp397.

В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, относятся к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, относятся к изотипу IgG1. В некоторых

вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, содержат Fc-область, выбранную из Fc-области IgG1, Fc-области IgG2, Fc-области IgG4 или гибридной Fc-области IgG2/IgG4 . В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, содержат Fc-область, выбранную из Fc-области IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, содержат модифицированную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, содержат модифицированную Fc-область, характеризующуюся сниженной активностью антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) или комплементзависимой цитотоксичности (CDC) по сравнению с исходным антителом.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые конкурируют с любым антителом или антигенсвязывающим фрагментом, приведенными в таблице 1, за связывание с белком ENTPD2 человека.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются по сути с тем же эпитопом ENTPD2, что и любое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, приведенные в таблице 1.

В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (KD), составляющей менее 10 нМ, например, с KD, составляющей менее 5 нМ, или с KD, составляющей менее 3 нМ, например, согласно измерению с помощью Biacore. В некоторых вариантах осуществления константу диссоциации антител или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном документе, для ENTPD2 человека измеряют с помощью Biacore при 25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, ингибируют ферментативную активность ENTPD2 человека на по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90%. В некоторых вариантах осуществления ферментативную активность ENTPD2 человека измеряют с помощью анализа FRET in vitro, в котором измеряется гидролиз ATP до ADP под действием рекомбинантного ENTPD2 либо ENTPD2, экспрессирующегося на поверхности клеток.

В некоторых вариантах осуществления антитела к ENTPD2 человека или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, ингибируют способность ENTPD2 к гидролизу аденозинтрифосфата (ATP). В некоторых вариантах осуществления способность ENTPD2 к гидролизу ATP измеряют с помощью анализа FRET in vitro, в котором измеряется гидролиз ATP до ADP под действием рекомбинантного ENTPD2 либо ENTPD2, экспрессирующегося на поверхности клеток.

В некоторых вариантах осуществления антитела к ENTPD2 человека или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, препятствуют связыванию ATP с ENTPD2 или удерживают ATP в каталитическом домене ENTPD2. В некоторых вариантах осуществления способность ENTPD2 к гидролизу ATP измеряют с помощью анализа FRET in vitro, в котором измеряется гидролиз ATP до ADP под действием рекомбинантного ENTPD2 либо ENTPD2, экспрессирующегося на поверхности клеток.

В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, представляют собой человеческие или гуманизированные антитела или их фрагменты.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело к ENTPD2 человека или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать полипептиды, содержащие сегменты или домены антител к ENTPD2 или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном документе.

Также предусмотрены векторы, содержащие такие нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело к ENTPD2 человека или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор выбран из ДНК-вектора, РНК-вектора, плазмиды, космиды или вирусного вектора. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор на основе любого из следующих вирусов: лентивируса, аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV), вируса простого герпеса (HSV), парвовируса, ретровируса, вируса осповакцины, вируса Синдбис, вируса гриппа, реовируса, вируса ньюкаслской болезни (NDV), вируса кори, вируса везикулярного стоматита (VSV), полиовируса, поксвируса, вируса Сенека-Валли, вируса Коксаки, энтеровируса, вируса миксомы или вируса Мараба. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вектор на основе AAV. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой лентивирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вектор дополнительно содержит промотор, например, тканеспецифичный промотор. В некоторых вариантах осуществления вектор дополнительно содержит выявляемый маркер.

Также в данном документе предусмотрены клетки, содержащие нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот, кодирующие антитело к ENTPD2 человека или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, или вектор, содержащий такие нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие антитело к ENTPD2 человека или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вектор, содержащий такие нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот, или клетку, содержащую нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот или вектор, описанные в данном документе, и

фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены способы получения антитела к ENTPD2 человека или его антигенсвязывающего фрагмента путем культивирования клетки, содержащей нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот, кодирующие антитело к ENTPD2 человека или его антигенсвязывающий фрагмент, или вектор, содержащий такие нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот, и сбор антитела или его антигенсвязывающего фрагмента из культуральной среды.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающего фрагмента, описанного в данном документе, нуклеиновой кислоты или наборов нуклеиновых кислот, кодирующих такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, клетки, содержащей такие нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот или вектор, или фармацевтической композиции, содержащей такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот, вектор или клетку. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот, вектор, клетку или фармацевтическую композицию вводят субъекту посредством внутривенного, внутриопухолевого или подкожного путей.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены способы стимуляции иммунного ответа у субъекта путем введения субъекту антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающего фрагмента, описанного в данном документе, нуклеиновой кислоты или наборов нуклеиновых кислот, кодирующих такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, клетки, содержащей такие нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот или вектор, или фармацевтической композиции, содержащей такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту или наборы нуклеиновых кислот, вектор или клетку, в количестве, эффективном для стимуляции иммунного ответа.

В некоторых вариантах осуществления такие способы могут дополнительно включать введение субъекту по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства.

В некоторых вариантах осуществления такие способы могут дополнительно включать введение субъекту по меньшей мере двух дополнительных терапевтических средств.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, нуклеиновая кислота или набор нуклеиновых кислот, кодирующие такие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вектор или клетка, содержащие такие нуклеиновую кислоту или набор

нуклеиновых кислот, или фармацевтическая композиция, содержащая такие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот, вектор или клетку, для применения в качестве лекарственного препарата.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, нуклеиновая кислота, кодирующая такие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вектор или клетка, содержащие такие нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот, или фармацевтическая композиция, содержащая такие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот, вектор или клетку, для применения в лечении рака.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство или процедура.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство или процедура выбраны из одного или нескольких из химиотерапии, таргетной противораковой терапии, онколитического лекарственного средства, цитотоксического средства, иммунотерапии, цитокина, хирургической процедуры, процедуры облучения, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибирующей молекулы, вакцины или клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является ингибитором PD-1, например, антителом к PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 выбран из PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 или AMP-224.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является ингибитором PD-L1, например, антителом к PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 выбран из FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба или BMS-936559.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является антагонистом A2AR. В некоторых вариантах осуществления антагонист A2AR выбран из:

i. молекулы антитела к CD73 или ее антигенсвязывающего фрагмента, где антитело к CD73 необязательно выбрано из:

a. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 295, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 296, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 295 или 296;

b. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 299, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 300, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 299 или 300;

c. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 302, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 303, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 302 или 303;

d. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 304, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 305, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 304 или 305;

e. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 306, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 307, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 306 или 307; или

f. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 308, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 309, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 308 или 309; или

ii. PBF509/NIR178, CPI444/V81444, AZD4635/HTL-1071, випаденанта, GBV-2034, AB928, теофиллина, истрадефиллина, тозаденанта/SYN-115, KW-6356, ST-4206 и преладенанта/SCH-420814; или

iii. 5-бром-2,6-ди-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амина или его фармацевтически приемлемой соли; (S)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина или его фармацевтически приемлемой соли; (R)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина, или его рацемата, или его фармацевтически приемлемой соли; 7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина или его фармацевтически приемлемой соли и 6-(2-хлор-6-метилпиридин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амина или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство выбрано из:

i. ингибитора CTLA-4, где ингибитор CTLA-4 необязательно выбран из

ипилимумаба или тремелимумаба;

ii. ингибитора TIM-3, где ингибитор TIM-3 необязательно выбран из MBG453, TSR-022 или LY3321367;

iii. ингибитора LAG-3, где ингибитор LAG-3 необязательно выбран из LAG525, BMS-986016, TSR-033, MK-4280 или REGN3767;

iv. агониста GITR, где агонист GITR необязательно выбран из GWN323, BMS-986156, MK-4166, MK-1248, TRX518, INCAGN1876, AMG 228 или INBRX-110;

v. молекулы полиспецифического антитела к CD3, где молекула полиспецифического антитела к CD3 необязательно представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3 и CD123 (например, XENP14045) или молекулу биспецифического антитела к CD3 и CD20 (например, XENP13676);

vi. молекулы цитокина, где молекула цитокина необязательно представляет собой IL-15 в комплексе с растворимой формой альфа-субъединицы рецептора IL-15 (IL-15Ra);

vii. ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), где ингибитор M-CSF необязательно представляет собой MCS110;

viii. ингибитора CSF-1R, где ингибитор CSF-1R необязательно представляет собой BLZ945;

ix. ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO);

x. ингибитора TGF-β;

xi. онколитического вируса;

xii. средства терапии на основе Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство выбрано из: 1) ингибитора протеинкиназы С (PKC); 2) ингибитора белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитора цитохрома P450 (например, ингибитора CYP17 или ингибитора 17-альфа-гидроксилазы/C17-20-лиазы); 5) железохелатирующего средства; 6) ингибитора ароматазы; 7) ингибитора p53, например, ингибитора взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктора апоптоза; 9) ингибитора ангиогенеза; 10) ингибитора альдостеронсинтазы; 11) ингибитора рецептора Smoothened (SMO); 12) ингибитора рецептора пролактина (PRLR); 13) ингибитора сигнального пути Wnt; 14) ингибитора CDK4/6; 15) ингибитора рецептора 2 фактора роста фибробластов (FGFR2)/рецептора 4 фактора роста фибробластов (FGFR4); 16) ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитора одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитора одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, c-KIT или Raf-киназы С; 19) агониста соматостатина и/или ингибитора высвобождения гормона роста; 20) ингибитора киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитора рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитора

P-гликопротеина 1; 23) ингибитора рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR); 24) ингибитора киназы BCR-ABL; 25) ингибитора FGFR; 26) ингибитора CYP11B2; 27) ингибитора HDM2, например, ингибитора взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитора тирозинкиназы; 29) ингибитора c-MET; 30) ингибитора JAK; 31) ингибитора DAC; 32) ингибитора 11β-гидроксилазы; 33) ингибитора IAP; 34) ингибитора PIM-киназы; 35) ингибитора поркупина; 36) ингибитора BRAF, например, BRAF V600E или BRAF дикого типа; 37) ингибитора HER3; 38) ингибитора MEK; 39) ингибитора липидкиназы или одного или нескольких средств, приведенных в таблице 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот, вектор, клетку или фармацевтическую композицию вводят параллельно с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим средством, до него или после него.

В некоторых вариантах осуществления введение антитела или антигенсвязывающего фрагмента, нуклеиновой кислоты или набора нуклеиновых кислот, вектора, клетки или фармацевтической композиции обеспечивает один или несколько из следующих эффектов:

(a) увеличение количества CD45+ CD4- CD8+ CD69+ CD25+ клеток в очаге опухоли или поражения у субъекта;

(b) увеличение количества CD45+ CD8- CD4+ FOXP3- CD69+ CD25+ клеток в очаге опухоли или поражения у субъекта;

(c) уменьшение уровня MCP1 или IL-1β в плазме крови субъекта или

(d) увеличение уровня MCP1 в очаге опухоли или поражения у субъекта.

В другом аспекте в данном документе предусмотрено применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, нуклеиновой кислоты, кодирующей такие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вектора или клетки, содержащих такую нуклеиновую кислоту, или фармацевтической композиции, содержащей такие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту, вектор или клетку, в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, при этом такой способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены способы стимуляции иммунного ответа у субъекта, при этом такой способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены композиции, содержащие антитело к ENTPD2 человека или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, для применения в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1, в лечении рака у субъекта.

В другом аспекте в данном документе предусмотрены композиции, содержащие антитело к ENTPD2 человека или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1, для применения в лечении рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой антитело к PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 выбран из PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 или AMP-224.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 выбран из FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба или BMS-936559.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой ENTPD2+ рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак ободочной и прямой кишки (CRC), рак желудка (например, аденокарциному желудка, карциному желудка), рак пищевода (например, плоскоклеточную карциному пищевода (ESCC)), рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), рак молочной железы (например, аденокарциному молочной железы) или рак яичника.

Все публикации, патенты и номера доступа, упомянутые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, как если бы каждая отдельная публикация или патент были конкретно и отдельно указаны как включенные посредством ссылки.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **фиг. 1A** изображена экспрессия ENTPD2 в иллюстративных линиях раковых клеток, определенная с помощью проточной цитометрии. **Фиг. 1B** представляет собой таблицу (таблицу 20), в которой показана плотность рецепторов ENTPD2 в иллюстративных линиях раковых клеток.

На **фиг. 2** изображены иллюстративные изображения IHC-окрашивания на ENTPD2 в фиксированных в формалине и залитых в парафин тканях первичных опухолей ободочной и прямой кишки, пищевода и яичника.

На **фиг. 3A** показаны аминокислотные последовательности тяжелой цепи (SEQ ID NO: 330) и легкой цепи (SEQ ID NO: 334) FAb22 антитела к ENTPD2 человека, при этом CDR подчеркнуты (согласно определению по Kabat), и остатки, расположенные в области контакта антитела и антигена, отмечены в каждом Fab как (*). На **фиг. 3B** показаны аминокислотные последовательности тяжелой цепи (SEQ ID NO: 336) и легкой цепи (SEQ ID NO: 239) FAb23 антитела к ENTPD2 человека, при этом CDR подчеркнуты (согласно определению по Kabat), и остатки, расположенные в области контакта антитела и

антигена, отмечены как (*). На **фиг. 3C** показаны аминокислотные последовательности тяжелой цепи (SEQ ID NO: 338) и легкой цепи (SEQ ID NO: 340) FAb24 антитела к ENTPD2 мыши, при этом CDR подчеркнуты (согласно определению по Kabat), и остатки, расположенные в области контакта антитела и антигена, отмечены как (*).

На **фиг. 4A** показана аминокислотная последовательность рекомбинантного ENTPD2 человека (остатки 29-462, с мутацией Y350A), используемого в кристаллографических исследованиях (SEQ ID NO: 1014), при этом элементы вторичной структуры показаны ниже аминокислотной последовательности. Прямоугольниками представлены α-спирали, а стрелками представлены β-тяжи. Неотмеченные стрелки и прямоугольники, соответствующие разрывам при форматировании последовательности, являются смежными с предшествующими отмеченными структурными элементами. Неструктурированные области не указаны. Растворимый внеклеточный домен ENTPD2 человека охватывает остатки 29-462. В конструкции используются N-концевой пептид GP67, являющийся сигналом секреции (первые 38 остатков выделены серым цветом), с сайтом отщепления сигнального пептида после последнего остатка и C-концевая гексагистидиновая (SEQ ID NO: 1010) металлоаффинная метка для облегчения очистки. Asn129, Asn294, Asn378 и Asn443 представляют собой предсказанные сайты N-связанного гликозилирования, для которых наблюдается гликозилирование в кристаллических структурах и которые показаны курсивом. Asn64 также представляет собой предсказанный сайт N-связанного гликозилирования, не наблюдаемый в этих кристаллических структурах. Остатки, расположенные в области контакта антигена и Fab в комплексах FAb22 и FAb23, указаны соответственно символами (*) и (:) ниже аминокислотной последовательности. На **фиг. 4B** показана аминокислотная последовательность рекомбинантного ENTPD2 мыши (остатки 29-462), используемого в кристаллографических исследованиях (SEQ ID NO: 1015), при этом элементы вторичной структуры показаны ниже аминокислотной последовательности. Прямоугольниками представлены α-спирали, а стрелками представлены β-тяжи. Неотмеченные стрелки и прямоугольники, соответствующие разрывам строки, являются смежными с предшествующими отмеченными структурными элементами. Неструктурированные области не указаны. Зрелый ENTPD2 мыши начинается с Thr29. В конструкции используются N-концевой пептид GP67, являющийся сигналом секреции (остатки 1-38), с сайтом отщепления сигнального пептида после остатка 38 и C-концевая гексагистидиновая (SEQ ID NO: 1010) металлоаффинная метка для облегчения очистки. Asn129, Asn294, Asn378 и Asn443 представляют собой потенциальные сайты N-связанного гликозилирования, показанные курсивом. Остатки, расположенные в области контакта антигена и FAb24, указаны символом (#) под аминокислотной последовательностью.

На **фиг. 5A** показано графическое изображение кристаллической структуры апо-формы эктодомена ENTPD2 человека с показанными остатками 33-453. Две проекции повернуты друг к другу под углом в 90 градусов. Отмечены последовательные элементы

вторичной структуры. Дисульфидные связи показаны квадратными скобками. Амино- и карбокси-концы отмечены как NT и CT соответственно. Мембранопроксимальная доля содержит как N-, так и C-конец (субдомен 1: Pro36-Ser161 и Lys427-Phe461) и заштрихована более темным цветом, чем мембранодистальная доля (субдомен 2: Gly162-Gln426). ATP-субстрат прочно связывается в междолевой щели. Местоположение ATP-связывающего участка проиллюстрировано на **фиг. 5B**. Показан аналог ATP AMP-PNP, наложенный на активный центр ENTPD2 человека, из коструктуры ENTPD2 крысы (PDB 3CJA).

На **фиг. 6** проиллюстрирован общий вид FAb22 антитела к ENTPD2 человека в комплексе с ENTPD2 человека. Две проекции показаны на расстоянии в 90 градусов друг от друга. AMP-PNP смоделирован в активном центре ENTPD2 на основе наложения из коструктуры ENTPD2 крысы PDB 3CJA. Тяжелая цепь Fab заштрихована более темным цветом.

На **фиг. 7** проиллюстрирован общий вид FAb23 антитела к ENTPD2 человека в комплексе с ENTPD2 человека. Две проекции показаны на расстоянии в 90 градусов друг от друга. AMP-PNP смоделирован в активном центре ENTPD2 на основе наложения из коструктуры ENTPD2 крысы PDB 3CJA. Тяжелая цепь Fab заштрихована более темным цветом.

На **фиг. 8** проиллюстрирован общий вид FAb24 антитела к ENTPD2 мыши в комплексе с ENTPD2 мыши. AMP-PNP смоделирован в активном центре ENTPD2 на основе наложения из коструктуры ENTPD2 крысы PDB 3CJA. Тяжелая цепь Fab заштрихована более темным цветом.

Фиг. 9 представляет собой диаграмму, иллюстрирующую долговременную эффективность антитела mAb13 к ENTPD2 мыши в комбинации с Ab к PD-1 в сингенной модели опухоли из клеток B16LM3.

Фиг. 10A-10C представляют собой графики, иллюстрирующие эффективность антитела mAb13 к ENTPD2 мыши в комбинации с Ab к PD-1 в сингенной модели опухоли B16F10, связанную с увеличенным притоком активированных CD8+ и CD4+ Т-клеток-хелперов в очаг опухоли в день 8 после обработки.

На фиг. 11A-11B изображено определение характеристик модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, в которой иллюстрируется экспрессия ENTPD2 человека с помощью FACS in vitro и устойчивость экспрессии ENTPD2 человека в опухолях in vivo с помощью IHC с использованием Ab к CD39L1 человека от Novus (в разведении 1:40).

Фиг. 12A-12B представляют собой графики, иллюстрирующие дозозависимую эффективность антител mAb1 и mAb6 к ENTPD2 человека в комбинации с Ab к PD-1 в модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека.

Фиг. 13A-13B представляют собой точечные диаграммы, на которых показаны уровни IL-1b (фиг. 13A) и MCP-1 (фиг. 13B) в плазме крови после обработки с помощью

антитела mAb1 к ENTPD2 человека или изотипического контроля в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, на мышах C57BL/6. **Фиг. 13C-13D** представляют собой точечные диаграммы, на которых показаны уровни IL-1β (фиг. 13C) и MCP-1 (фиг. 13D) в опухоли после обработки с помощью антитела mAb1 к ENTPD2 человека или изотипического контроля в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, на мышах C57BL/6.

Фиг. 14 представляет собой график, на котором показана эффективность антитела mAb1 к ENTPD2 в комбинации с антагонистом A2AR NIR178 in vivo в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, на мышах C57BL/6.

Фиг. 15 представляет собой график, на котором показана иллюстративная активность Ab к ENTPD2 в биохимическом функциональном анализе ENTPD2 человека. Антитела mAb1, mAb17, mAb19 и mAb21 к ENTPD2 человека сильно ингибируют каталитическую активность рекомбинантного ENTPD2 человека.

На фиг. 16A-16B изображена иллюстративная активность Ab к ENTPD2 человека в функциональном анализе с использованием клеток NIH/3T3 или RKO, экспрессирующих ENTPD2 человека или макака-крабоеда.

На **фиг. 17** изображен график, иллюстрирующий функциональную активность антител mAb13, mAb14, mAb15 к ENTPD2 мыши in vitro в функциональном анализе с использованием клеток NIH/3T3, экспрессирующих ENTPD2 мыши.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, например, моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эктоферментом эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазой 2 (например, белком ENTPD2 человека). Антитела к ENTPD2 или их антигенсвязывающие фрагменты применимы для лечения заболеваний, ассоциированных с ENTPD2, таких как рак.

Определения

Используемая в описании и формуле изобретения форма единственного числа включает ссылки на форму множественного числа, если контекст явно не указывает на иное. Например, термин "клетка" включает множество клеток, в том числе их смеси.

Во всем данном описании и нижеследующей формуле изобретения, если контекст не требует иного, слово "содержать" и его варианты, такие как "содержит" и "содержащий", используются в данном документе в их открытом и неограничивающем смысле, если не указано иное.

При использовании в данном документе "состоящий из" исключает любые элемент, стадию или ингредиент, не указанные в аспекте, варианте осуществления и/или элементе формулы изобретения. При использовании в данном документе "состоящий по сути из" не исключает материалы или стадии, которые существенно не влияют на основные и новые

характеристики аспекта, варианта осуществления и/или пункта формулы изобретения.

В каждом случае в данном документе любой из терминов "содержащий", "состоящий по сути из" и "состоящий из" может быть заменен любым из других двух терминов.

Все числовые обозначения, например, pH, температура, время, концентрация и молекулярная масса, в том числе диапазоны, являются приближенными значениями, которые варьируются в сторону (+) или (-) с шагом 0,1. Следует понимать, хотя это не всегда указано в явной форме, что всем числовым обозначениям предшествует термин "приблизительно". Также следует понимать, хотя это не всегда указано в явной форме, что реагенты, описанные в данном документе, представляют собой лишь примеры и что соответствующие им эквиваленты известны из уровня техники.

Как используется в данном документе, эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 2 (ENTPD2) (также известная как белок 1, подобный антигену CD39, CD39-подобный белок 1, CD39L1, экто-АТР-дифосфогидролаза 2, экто-АТРаза, экто-АТРаза 2, экто-АТРДаза 2, NTPDаза-2, NTPDаза 2) относится к ферменту типа 2 из семейства эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаз (E-NTPDаз), которое представляет собой семейство эктонуклеозидаз, гидролизующих 5'-трифосфаты. Фермент ENTPD2 кодируется геном ENTPD2. Ген ENTPD2 человека картирован на хромосоме в местоположении 9q34.3, и геномную последовательность гена ENTPD2 человека можно найти в GenBank под номером NC_000009.12. Последовательности мРНК и белка для вариантов транскриптов ENTPD2 человека можно найти в GenBank под следующими №№ доступа:

Изоформа 1: NM_203468.2 (мРНК) → NP_982293.1 (белок с 495 аминокислотами)

Изоформа 2: NM_001246.3 (мРНК) → NP_001237.1 (белок с 472 аминокислотами)

Эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 2, изоформа 1 [Homo sapiens, NP_982293.1]

MAGKVRSLLPPLLLAAAGLAGLLLLCVPTRDVREPPALKYGIVLDAGSSH
TSMFIYKWPADKENDTGIVGQHSSCDVPGGGISSYADNPSGASQSLVGCL
EQALQDVPKERHAGTPLYLGATAGMRLLNLTNPEASTSVLMAVTHTLTQY
PFDFRGARILSGQEEGVFGWVTANYLLENFIKYGWVGRWFRPRKGTLGAM
DLGGASTQITFETTSPAEDRASEVQLHLYGQHYRVYTHSFLCYGRDQVLQ
RLLASALQTHGFHPCWPRGFSTQVLLGDVYQSPCTMAQRPQNFNSSARVS
LSGSSDPHLCRDLVSGLFSFSSCPFSRCSFNGVFQPPVAGNFVAFSAFFY
TVDFLRTSMGLPVATLQQLEAAAVNVCNQTWAQLQARVPGQRARLADYCA
GAMFVQQLLSRGYGFDERAFGGVIFQKKAADTAVGWALGYMLNLTNLIPA
DPPGLRKGTDFSSWVVLLLLFASALLAALVLLLRQVHSAKLPSTI (SEQ ID NO: 291)

Эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 2 Homo sapiens (ENTPD2), вариант транскрипта 1, мРНК [NM_203468.2]

1 ggctccccgc actctccggg tccacgcatc gtcctcccgc gcgcccgccc gcccatggcc

61 gggaaggtgc ggtcactgct gccgccgctg ctgctggccg ccgcgggcct cgccggcctc

121 ctactgctgt gcgtccccac ccgcgacgtc cgggagccgc ccgccctcaa gtatggcatc

181 gtcctggacg ctggttcttc acacacgtcc atgtttatct acaagtggcc ggcagacaag
241 gagaacgaca caggcattgt gggccagcac agctcctgtg atgttccagg tgggggcatc
301 tccagctatg cagacaaccc ttctggggcc agccagagtc ttgttggatg cctcgaacag
361 gcgcttcagg atgtgcccaa agagagacac gcgggcacac ccctctacct gggagccaca
421 gcgggtatgc gcctgctcaa cctgaccaat ccagaggcct cgaccagtgt gctcatggca
481 gtgactcaca cactgaccca gtaccccttt gacttccggg gtgcacgcat cctctcgggc
541 caggaagagg gggtgtttgg ctgggtgact gccaactacc tgctggagaa cttcatcaag
601 tacggctggg tgggccggtg gttccggcca cggaagggga cactgggggc catggacctg
661 gggggtgcct ctacccagat cacttttgag acaaccagtc cagctgagga cagagccagc
721 gaggtccagc tgcatctcta cggccagcac taccgagtct acacccacag cttcctctgc
781 tatggccgtg accaggtcct ccagaggctg ctggccagcg ccctccagac ccacggcttc
841 caccctgct ggccgagggg cttttccacc caagtgctgc tcggggatgt gtaccagtca
901 ccatgcacca tggcccagcg gccccagaac ttcaacagca gtgccagggt cagcctgtca
961 gggagcagtg acccccacct ctgccgagat ctggtttctg ggctcttcag cttctcctcc
1021 tgccccttct cccgatgctc tttcaatggg gtcttccagc ccccagtggc tgggaacttt
1081 gtggccttct ctgccttctt ctacactgtg gacttttgc ggacttcgat ggggctgccc
1141 gtggccaccc tgcagcagct ggaggcagcc gcagtgaatg tctgcaacca gacctgggct
1201 cagctgcaag ctcgggtgcc agggcaacgg gcccgcctgg ccgactactg cgccggggcc
1261 atgttcgtgc agcagctgct gagtcgcggc tacggcttcg acgagcgcgc cttcggcggc
1321 gtgatcttcc agaagaaggc cgcggacact gcagtgggct gggcgctcgg ctacatgctg
1381 aacctgacca acctgatccc cgccgacccg ccggggctgc gcaagggcac agacttcagc
1441 tcctgggtcg tcctcctgct gctcttcgcc tccgcgctcc tggctgcgct tgtcctgctg
1501 ctgcgtcagg tgcactccgc caagctgcca agcaccattt aggggccgac gggggcagct
1561 gccccatccc tcccccaacc cctgtatccc caccccgtac tcccaccct cccacaaccc
1621 ctgtacctcc caccctgta tccccacccc tccacccacc cctctcccaa cctctctccc
1681 cgcccctgta tcctgcattc ctccacccac cctctatccc ccaccgctcc accccaccac
1741 tgtcttctcc atccttccac cccaccctca gcgtctctgc ccctaaggca gcccaggaaa
1801 taggaactga gactctggta cccacaggag cctgggtggg caaagagcgc tcaatccagc
1861 tccttgaacc cctccagccc gcttcagcct gggcatcact gcaggccccg tgctcctcct
1921 cctcctcctc agggctgggt ctccagagag tggggccttg gtcctgagaa tcagcccttа
1981 gaggctcctt ctgtgtagtc tgggtctgta ctggggaggg tcacagccca cgggctggca
2041 gccagcccag cacctacttg taaaaatttt gtaataaaaa gtttttccta gagacgtgaa
2101 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa (SEQ ID NO: 292)

Эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 2, изоформа 2 [Homo sapiens, NP_001237.1]

MAGKVRSLLPPLLLAAAGLAGLLLLCVPTRDVREPPALKYGIVLDAGSSH
TSMFIYKWPADKENDTGIVGQHSSCDVPGGGISSYADNPSGASQSLVGCL
EQALQDVPKERHAGTPLYLGATAGMRLLNLTNPEASTSVLMAVTHTLTQY
PFDFRGARILSGQEEGVFGWVTANYLLENFIKYGWVGRWFRPRKGTLGAM

DLGGASTQITFETTSPAEDRASEVQLHLYGQHYRVYTHSFLCYGRDQVLQ
RLLASALQTHGFHPCWPRGFSTQVLLGDVYQSPCTMAQRPQNFNSSARVS
LSGSSDPHLCRDLVSGLFSFSSCPFSRCSFNGVFQPPVAGNFVAFSAFFY
TVDFLRTSMGLPVATLQQLEAAAVNVCNQTWAQQLLSRGYGFDERAFGGV
IFQKKAADTAVGWALGYMLNLTNLIPADPPGLRKGTDFSSWVVLLLLFAS
ALLAALVLLLRQVHSAKLPSTI (SEQ ID NO: 293)

Эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 2 Homo sapiens (ENTPD2), вариант транскрипта 2, мРНК [NM_001246.3]

1 ggctccccgc actctccggg tccacgcatc gtcctcccgc gcgcccgccc gcccatggcc
61 gggaaggtgc ggtcactgct gccgccgctg ctgctggccg ccgcgggcct cgccggcctc
121 ctactgctgt gcgtccccac ccgcgacgtc cgggagccgc ccgccctcaa gtatggcatc
181 gtcctggacg ctggttcttc acacacgtcc atgtttatct acaagtggcc ggcagacaag
241 gagaacgaca caggcattgt gggccagcac agctcctgtg atgttccagg tgggggcatc
301 tccagctatg cagacaaccc ttctggggcc agccagagtc ttgttggatg cctcgaacag
361 gcgcttcagg atgtgcccaa agagagacac gcgggcacac ccctctacct gggagccaca
421 gcgggtatgc gcctgctcaa cctgaccaat ccagaggcct cgaccagtgt gctcatggca
481 gtgactcaca cactgaccca gtaccccttt gacttccggg gtgcacgcat cctctcgggc
541 caggaagagg gggtgtttgg ctgggtgact gccaactacc tgctggagaa cttcatcaag
601 tacggctggg tgggccggtg gttccggcca cggaagggga cactgggggc catggacctg
661 gggggtgcct ctacccagat cacttttgag acaaccagtc cagctgagga cagagccagc
721 gaggtccagc tgcatctcta cggccagcac taccgagtct acacccacag cttcctctgc
781 tatggccgtg accaggtcct ccagaggctg ctggccagcg ccctccagac ccacggcttc
841 cacccctgct ggccgagggg cttttccacc caagtgctgc tcggggatgt gtaccagtca
901 ccatgcacca tggcccagcg gccccagaac ttcaacagca gtgccagggt cagcctgtca
961 gggagcagtg acccccacct ctgccgagat ctggtttctg ggctcttcag cttctcctcc
1021 tgccccttct cccgatgctc tttcaatggg gtcttccagc ccccagtggc tgggaacttt
1081 gtggccttct ctgccttctt ctacactgtg gacttttgc ggacttcgat ggggctgccc
1141 gtggccaccc tgcagcagct ggaggcagcc gcagtgaatg tctgcaacca gacctgggct
1201 cagcagctgc tgagtcgcgg ctacggcttc gacgagcgcg ccttcggcgg cgtgatcttc
1261 cagaagaagg ccgcggacac tgcagtgggc tgggcgctcg gctacatgct gaacctgacc
1321 aacctgatcc ccgccgaccc gccggggctg cgcaagggca cagacttcag ctcctgggtc
1381 gtcctcctgc tgctcttcgc ctccgcgctc ctggctgcgc ttgtcctgct gctgcgtcag
1441 gtgcactccg ccaagctgcc aagcaccatt taggggccga cgggggcagc tgccccatcc
1501 ctcccccaac ccctgtatcc ccaccccgta ctcccacccc tcccacaacc cctgtacctc
1561 ccacccctgt atccccaccc ctccacccac ccctctccca acctctctcc ccgcccctgt
1621 atcctgcatt cctccaccca ccctctatcc cccaccgctc caccccacca ctgtcttctc
1681 catccttcca ccccaccctc agcgtctctg cccctaaggc agcccaggaa ataggaactg
1741 agactctggt acccacagga gcctgggtgg gcaaagagcg ctcaatccag ctccttgaac
1801 ccctccagcc cgcttcagcc tgggcatcac tgcaggcccc gtgctcctcc tcctcctcct
1861 cagggctggg tctccagaga gtggggcctt ggtcctgaga atcagccctt agaggctcct

1921 tctgtgtagt ctgggtctgt actggggagg gtcacagccc acgggctggc agccagccca

1981 gcacctactt gtaaaaattt tgtaataaaa agtttttcct agagacgtga aaaaaaaaaa

2041 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa (SEQ ID NO: 294)

Как используется в данном документе, белок ENTPD2 человека также охватывает белки, которые по всей своей длине характеризуются по меньшей мере приблизительно 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью последовательности с любой из изоформ ENTPD2. Последовательности белков ENTPD2 мыши, макака-крабоеда и других животных известны из уровня техники.

Используемый в данном документе термин "антитело" относится к последовательности белка или полипептида, полученной из молекулы иммуноглобулина, которая специфично связывается с антигеном. Антитела могут являться поликлональными или моноклональными, многоцепочечными или одноцепочечными или интактными иммуноглобулинами и могут быть получены из природных источников или из рекомбинантных источников. Например, встречающееся в природе антитело IgG может представлять собой гликопротеин, содержащий по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой посредством дисульфидных связей. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (сокращенно обозначаемой в данном документе как VH) и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов - CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (сокращенно обозначаемой в данном документе как VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена - CL. VH- и VL-области могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), которые чередуются с более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от амино-конца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, в том числе с различными клетками иммунной системы (например, эффекторными клетками) и первым компонентом (C1q) классического пути активации системы комплемента. Антитело может представлять собой моноклональное антитело, человеческое антитело, гуманизированное антитело, камелизированное антитело или химерное антитело. Антитела могут относиться к любому изотипу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу.

Термин "фрагмент антитела" или "антигенсвязывающий фрагмент" относится к по меньшей мере одной части антитела, которая сохраняет способность специфично взаимодействовать (например, посредством связывания, стерического несоответствия,

стабилизации/дестабилизации, пространственного распределения) с эпитопом антигена. Примеры фрагментов антител включают без ограничения Fab-, Fab'-, F(ab')2-, Fv-фрагменты, scFv-фрагменты антител, Fv, стабилизированные дисульфидными связями (sdFv), Fd-фрагмент, состоящий из VH- и CH1-доменов, линейные антитела, однодоменные антитела, такие как sdAb (либо VL, либо VH), VHH-домены верблюдовых, полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител, таких как бивалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области, и выделенную CDR или другие эпитопсвязывающие фрагменты антитела. Антигенсвязывающий фрагмент также может быть включен в состав однодоменных антител, максиантител, миниантител, нанотел, интрател, диател, триател, тетрател, v-NAR и бис-scFv (см., например, Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005). Антигенсвязывающие фрагменты также могут быть привиты на остовы на основе полипептидов, таких как фибронектин III типа (Fn3) (см. патент США № 6703199, в котором описаны миниантитела на основе полипептида фибронектина). Термин "scFv" относится к слитому белку, который содержит по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащий вариабельную область легкой цепи, и по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащий вариабельную область тяжелой цепи, где вариабельные области легкой и тяжелой цепей непрерывно связаны друг с другом, например, посредством синтетического линкера, например, короткого гибкого полипептидного линкера, и способны экспрессироваться в виде одноцепочечного полипептида, и где scFv сохраняет специфичность интактного антитела, из которого он получен. Если не указано иное, то используемый в данном документе scFv может иметь вариабельные VL- и VH-области в любом порядке, например, относительно N-конца и C-конца полипептида scFv может содержать VL-линкер-VH или может содержать VH-линкер-VL.

Используемые в данном документе термины "область, определяющая комплементарность" или "CDR" относятся к последовательностям аминокислот в пределах вариабельных областей антитела, которые придают специфичность к антигену и аффинность связывания. Например, как правило, три CDR находятся в каждой вариабельной области тяжелой цепи (например, HCDR1, HCDR2 и HCDR3), и три CDR находятся в каждой вариабельной области легкой цепи (например, LCDR1, LCDR2 и LCDR3). Точные границы аминокислотной последовательности указанной CDR можно определить с помощью любой из ряда широко известных схем, в том числе описанных в Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (схема нумерации "по Kabat"), Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948 (схема нумерации "по Chothia") или их комбинации и схемы нумерации ImMunoGenTics (IMGT) (Lefranc, M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999); Lefranc, M.-P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003) (схема нумерации "IMGT"). Согласно комбинированной схеме нумерации по Kabat и Chothia для указанной CDR-области (например, CDR1 HC, CDR2 HC, CDR3 HC, CDR1

LC, CDR2 LC или CDR3 LC) в некоторых вариантах осуществления CDR соответствуют аминокислотным остаткам, которые определены как часть CDR по Kabat, вместе с аминокислотными остатками, которые определены как часть CDR по Chothia. Как используется в данном документе, CDR, определенные в соответствии со схемой нумерации "по Chothia", также иногда называют "гипервариабельными петлями".

Например, согласно Kabat аминокислотные остатки CDR в вариабельном домене тяжелой цепи (VH) нумеруются как 31-35 (HCDR1) (например, со вставкой(вставками) после положения 35), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3); и аминокислотные остатки CDR в вариабельном домене легкой цепи (VL) нумеруются как 24-34 (LCDR1) (например, со вставкой(вставками) после положения 27), 50-56 (LCDR2) и 89-97 (LCDR3). В качестве другого примера, согласно Chothia аминокислоты CDR в VH нумеруются как 26-32 (HCDR1) (например, со вставкой(вставками) после положения 31), 52-56 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3); и аминокислотные остатки в VL нумеруются как 26-32 (LCDR1) (например, со вставкой(вставками) после положения 30), 50-52 (LCDR2) и 91-96 (LCDR3). При объединении определений CDR по Kabat и Chothia CDR содержат, например, аминокислотные остатки 26-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3) в человеческой VH и аминокислотные остатки 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) и 89-97 (LCDR3) в человеческой VL или состоят из них. Согласно IMGT аминокислотные остатки CDR в VH нумеруются как примерно 26-35 (CDR1), 51-57 (CDR2) и 93-102 (CDR3), и аминокислотные остатки CDR в VL нумеруются как примерно 27-32 (CDR1), 50-52 (CDR2) и 89-97 (CDR3) (нумерация "в соответствии с Kabat"). Согласно IMGT CDR-области антитела можно определять с помощью программы IMGT/DomainGap Align. Как правило, если конкретно не указано иное, молекулы антител могут содержать любую комбинацию из одной или нескольких CDR по Kabat и/или CDR по Chothia.

Термин "эпитоп" включает любую белковую детерминанту, способную специфично связываться с иммуноглобулином или иным образом взаимодействовать с молекулой. Эпитопные детерминанты обычно состоят из химически активных поверхностных групп молекул, таких как аминокислоты или углеводные или сахарные боковые цепи, и могут обладать специфическими характеристиками трехмерной структуры, а также специфическими характеристиками заряда. Эпитоп может быть "линейным" или "конформационным". Конформационные и линейные эпитопы отличаются тем, что связывание с первым, но не с последним, утрачивается в присутствии денатурирующих растворителей.

Термин "одновалентное антитело", используемый в данном документе, относится к антителу, которое связывается с одним эпитопом в молекуле-мишени.

Термин "двухвалентное антитело", используемый в данном документе, относится к антителу, которое связывается с двумя эпитопами в по меньшей мере двух идентичных молекулах-мишенях. Двухвалентное антитело может также перекрестно связывать молекулы-мишени друг с другом. "Двухвалентное антитело" также относится к антителу, которое связывается с двумя разными эпитопами в по меньшей мере двух идентичных

молекулах-мишенях.

Термин "поливалентное антитело" относится к отдельной связывающей молекуле с "валентностью", превышающей единицу, где "валентность" описывается как количество антигенсвязывающих компонентов на молекулу конструкции антитела. Таким образом, отдельная связывающая молекула может связываться с более чем одним связывающим участком в молекуле-мишени. Примеры поливалентных антител включают без ограничения двухвалентные антитела, трехвалентные антитела, четырехвалентные антитела, пятивалентные антитела и т. п., равно как и биспецифические антитела и бипаратопные антитела. Например, в случае с ENTPD2 поливалентное антитело (например, бипаратопное антитело к ENTPD2) имеет связывающий компонент для двух доменов ENTPD2 соответственно.

Термин "поливалентное антитело" также относится к отдельной связывающей молекуле, которая имеет более одного антигенсвязывающего компонента для двух отдельных молекул-мишеней. Например, это относится к антителу, которое связывается с ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека) и второй молекулой-мишенью, отличной от ENTPD2. В одном варианте осуществления поливалентное антитело представляет собой четырехвалентное антитело, которое имеет четыре эпитопсвязывающих домена. Четырехвалентная молекула может быть биспецифической и двухвалентной для каждого связывающего участка в данной молекуле-мишени.

Термин "биспецифическое антитело", используемый в данном документе, относится к антителу, которое связывается с двумя или более разными эпитопами. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело связывается с двумя разными мишенями. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело связывается с двумя разными эпитопами в одной молекуле-мишени. Антитело, которое связывается с двумя разными эпитопами в одной молекуле-мишени, также известно как "бипаратопное антитело".

Фразы "моноклональное антитело" или "композиция на основе моноклональных антител", используемые в данном документе, относятся к полипептидам, в том числе антителам, биспецифическим антителам и т. д., которые имеют по существу идентичную аминокислотную последовательность или получены из одного и того же генетического источника. Данный термин также охватывает препараты на основе молекул антител одного молекулярного состава. Композиция на основе моноклональных антител проявляет один тип специфичности и аффинности связывания в отношении конкретного эпитопа.

Используемая в данном документе фраза "человеческое антитело" охватывает антитела, имеющие вариабельные области, в которых как каркасные области, так и CDR-области получены из последовательностей человеческого происхождения. Кроме того, если антитело содержит константную область, то константная область также получена из таких человеческих последовательностей, например, человеческих последовательностей зародышевого типа, или мутантных вариантов человеческих последовательностей зародышевого типа, или антитела, содержащего консенсусные последовательности

каркасных областей, полученные в результате анализа последовательностей человеческих каркасных областей, например, как описано в Knappik, et al. (2000. J Mol Biol 296, 57-86). Структуры и местоположения вариабельных доменов иммуноглобулина, например, CDR, можно определить с помощью хорошо известных схем нумерации, например, схемы нумерации по Kabat, схемы нумерации по Chothia или комбинации схем нумерации по Kabat и Chothia и схемы нумерации ImMunoGenTics (IMGT) (см., например, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services (1991), eds. Kabat et al.; Al Lazikani et al., (1997) J. Mol. Bio. 273:927-948; Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit., NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services; Chothia et al., (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al., (1989) Nature 342:877-883; Al-Lazikani et al., (1997) J. Mal. Biol. 273:927-948 и Lefranc, M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999); Lefranc, M.-P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)).

Человеческие антитела по настоящему изобретению могут содержать аминокислотные остатки, которые не закодированы в человеческих последовательностях (например, мутации, введенные посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза in vitro или благодаря соматическим мутациям in vivo, или консервативную замену, которая содействует стабильности или изготовлению). Однако подразумевается, что используемый в данном документе термин "человеческое антитело" не включает антитела, в которых последовательности CDR, полученные из последовательностей зародышевого типа от другого вида млекопитающего, такого как мышь, были привиты на последовательности человеческих каркасных областей.

Фраза "рекомбинантное человеческое антитело", используемая в данном документе, включает все человеческие антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные посредством рекомбинантных способов, такие как антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным или трансхромосомным по генам человеческих иммуноглобулинов, или гибридомы, полученной из него, антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии человеческого антитела, например, из трансфектомы, антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки человеческих антител, и антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные с помощью любых других способов, которые включают сплайсинг всех последовательностей гена человеческого иммуноглобулина или их части с получением других последовательностей ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют вариабельные области, в которых каркасные области и CDR-области получены из последовательностей человеческого иммуноглобулина зародышевого типа. Однако в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные человеческие антитела могут быть подвергнуты мутагенезу in vitro (или, в случае использования животного, трансгенного по последовательностям человеческого Ig, соматическому мутагенезу in vivo), и, таким образом, аминокислотные последовательности VH- и VL-областей рекомбинантных антител представляют собой

последовательности, которые, хотя и получены из человеческих последовательностей VH и VL зародышевого типа и являются родственными им, могут не существовать в естественных условиях в репертуаре человеческих антител зародышевого типа in vivo.

Термин "Fc-область", используемый в данном документе, относится к полипептиду, содержащему CH3, CH2 и по меньшей мере часть шарнирной области константного домена антитела. Fc-область может необязательно содержать CH4-домен, присутствующий в некоторых классах антител. Fc-область может содержать всю шарнирную область константного домена антитела. В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрены Fc-область и CH1-область антитела. В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрена CH3-область Fc-области антитела. В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрены Fc-область, CH1-область и C-каппа/лямбда-область константного домена антитела. В одном варианте осуществления связывающая молекула по настоящему изобретению содержит константную область, например, константную область тяжелой цепи. В одном варианте осуществления такая константная область является модифицированной по сравнению с константной областью дикого типа. Иными словами, полипептиды по настоящему изобретению, раскрытые в данном документе, могут содержать изменения или модификации одного или нескольких из трех константных доменов тяжелой цепи (CH1, CH2 или CH3) и/или домена константной области легкой цепи (CL). Примеры модификаций включают добавления, делеции или замены одной или нескольких аминокислот в одном или нескольких доменах. Такие изменения могут быть включены с целью оптимизации эффекторной функции, периода полужизни и т. д.

Используемый в данном документе термин "аффинность" относится к силе взаимодействия между антителом и антигеном в отдельных антигенных сайтах. В пределах каждого антигенного сайта вариабельная область "плеча" антитела взаимодействует с антигеном посредством слабых сил нековалентного взаимодействия во многих сайтах; при этом чем больше взаимодействий, тем сильнее аффинность. Используемый в данном документе термин "высокая аффинность" в отношении антитела IgG или его фрагмента (например, Fab-фрагмента) относится к антителу, характеризующемуся нокдауном антигена-мишени, составляющим 10^{-8} M или меньше, 10^{-9} M или меньше, или 10^{-10} M, или 10^{-11} M или меньше, или 10^{-12} M или меньше, или 10^{-13} M или меньше. Однако, высокоаффинное связывание может варьироваться в случае с другими изотипами антител. Например, высокоаффинное связывание для изотипа IgM относится к антителу, которое характеризуется нокдауном, составляющим 10^{-7} M или меньше или 10^{-8} M или меньше.

Используемый в данном документе термин "авидность" относится к информативной мере общей стабильности или прочности комплекса антитело-антиген. Она контролируется тремя основными факторами: аффинностью антитела к эпитопу; валентностью как антигена, так и антитела; а также структурным расположением взаимодействующих частей. В конечном итоге данные факторы определяют

специфичность антитела, другими словами, вероятность того, что конкретное антитело свяжется с определенным антигенным эпитопом.

Термин "специфичность связывания", используемый в данном документе, относится к способности отдельного антигенсвязывающего центра антитела вступать в реакцию с одной антигенной детерминантой, а не с другой антигенной детерминантой. Антигенсвязывающий центр антитела располагается в Fab-части молекулы и сформирован из гипервариабельных областей тяжелой и легкой цепей. Аффинность связывания антитела представляет собой силу реакции между одной антигенной детерминантой и одним антигенсвязывающим центром антитела. Она представляет собой сумму сил притяжения и отталкивания, действующих между антигенной детерминантой и антигенсвязывающим центром антитела.

Термин "лечить" или "лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или предупредительным мерам, где целью является предупреждение или замедление нежелательного физиологического изменения или нарушения. Для целей настоящего изобретения благоприятные или необходимые клинические результаты включают без ограничения выявляемое или невыявляемое ослабление симптомов, уменьшение степени выраженности заболевания, стабилизацию (т. е. отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или смягчение болезненного состояния и ремиссию (частичную либо полную). "Лечение" может также означать продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью при отсутствии получения лечения. В других вариантах осуществления термины "лечить", "лечение" и "осуществление лечения" относятся к ингибированию прогрессирования пролиферативного нарушения физическим путем, например, посредством стабилизации различимого симптома, физиологическим путем, например, посредством стабилизации физического параметра, либо ими обоими. В других вариантах осуществления термины "лечить", "лечение" и "осуществление лечения" относятся к снижению или стабилизации размера опухоли или количества раковых клеток.

Термин "субъект" относится к животному, являющемуся человеком или отличному от человека, для которого проводят лечение в соответствии со способами по настоящему изобретению. Предусматриваются ветеринарные и неветеринарные пути применения. Данный термин включает без ограничения млекопитающих, например, людей, других приматов, свиней, грызунов, таких как мыши и крысы, кроликов, морских свинок, хомяков, коров, лошадей, кошек, собак, овец и коз. Типичные субъекты включают людей, сельскохозяйственных животных и домашних питомцев, таких как кошки и собаки. В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек.

"Эффективное количество" относится к количеству, достаточному для достижения благоприятных или необходимых результатов. Например, терапевтическое количество представляет собой такое количество, при котором достигается необходимый терапевтический эффект. Данное количество может быть таким же, как и

профилактически эффективное количество, которое представляет собой количество, необходимое для предупреждения начала проявления заболевания или симптомов заболевания, или отличным от него. Эффективное количество можно вводить посредством одного или нескольких введений, применений или доз. "Терапевтически эффективное количество" терапевтического соединения (т. е. эффективная доза) зависит от выбранных терапевтических соединений. Композиции можно вводить с частотой от одного или нескольких раз в день до одного или нескольких раз в неделю. Специалист в данной области поймет, что на дозу и временные рамки, требуемые для эффективного лечения субъекта, могут влиять определенные факторы, в том числе без ограничения тяжесть заболевания или нарушения, предыдущие виды лечения, общее состояние здоровья и/или возраст субъекта и наличие других заболеваний. Более того, лечение субъекта терапевтически эффективным количеством терапевтических соединений, описанных в данном документе, может включать одну процедуру лечения или курс лечения.

Термин "нуклеиновая кислота" или "полинуклеотид" относится к дезоксирибонуклеиновым кислотам (ДНК) или рибонуклеиновым кислотам (РНК) и их полимерам в однонитевой или двухнитевой форме. Термин "набор нуклеиновых кислот" может, например, включать отдельные выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь антитела или домены биспецифического или полиспецифического антитела. Если конкретно не ограничено, термин охватывает нуклеиновые кислоты, содержащие известные аналоги природных нуклеотидов, которые имеют свойства связывания, подобные свойствам эталонной нуклеиновой кислоты, и метаболизируются способом, подобным способу для встречающихся в природе нуклеотидов. Если не указано иное, конкретная последовательность нуклеиновой кислоты также в неявной форме охватывает ее варианты с консервативными модификациями (например, с заменами кодонов вырожденными кодонами), аллели, ортологи, SNP и комплементарные последовательности, а также указанную в явной форме последовательность. В частности, замены вырожденными кодонами можно осуществлять посредством создания последовательностей, в которых в третьем положении одного или нескольких выбранных (или всех) кодонов произведена замена любым из канонических оснований и/или дезоксиинозиновыми остатками (Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); и Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)).

Термины "пептид", "полипептид" и "белок" используются взаимозаменяемо и относятся к соединению, состоящему из аминокислотных остатков, ковалентно связанных пептидными связями. Белок или пептид должен содержать по меньшей мере две аминокислоты, и не установлено ограничение на максимальное количество аминокислот, которые может содержать последовательность белка или пептида. Полипептиды включают любой пептид или белок, содержащий две или более аминокислоты, соединенные друг с другом пептидными связями. Используемый в данном документе

термин относится как к коротким цепям, которые также, как правило, называются в данной области техники, например, пептидами, олигопептидами и олигомерами, так и к более длинным цепям, которые обычно называются в данной области техники белками, которых существует множество типов. "Полипептиды" включают, например, среди прочего, биологически активные фрагменты, по существу гомологичные полипептиды, олигопептиды, гомодимеры, гетеродимеры, варианты полипептидов, модифицированные полипептиды, производные, аналоги, слитые белки. Полипептид включает природный пептид, рекомбинантный пептид или их комбинацию.

Термин "консервативные модификации последовательности" относится к аминокислотным модификациям, которые не оказывают значительного влияния на характеристики связывания антитела или фрагмента антитела, содержащих данную аминокислотную последовательность, или значительно не изменяют их. Такие консервативные модификации включают аминокислотные замены, добавления и делеции. Модификации могут быть введены в антитело или фрагмент антитела по настоящему изобретению с помощью стандартных методик, известных из уровня техники, таких как сайт-направленный мутагенез и ПЦР-опосредованный мутагенез. Консервативные аминокислотные замены представляют собой замены, при которых аминокислотный остаток заменяется аминокислотным остатком, имеющим сходную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих сходные боковые цепи, были определены в уровне техники. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин).

Термины "гомологичный" или "идентичность" относятся к идентичности последовательностей субъединиц двух полимерных молекул, например, двух молекул нуклеиновой кислоты, таких как две молекулы ДНК или две молекулы РНК, или двух молекул полипептидов. Если положение субъединицы в обеих из двух молекул занимает одна и та же мономерная субъединица, например, если положение в каждой из двух молекул ДНК занято аденином, то они являются гомологичными или идентичными по данному положению. Гомология между двумя последовательностями находится в прямой зависимости от количества совпадающих или гомологичных положений; например, если половина (например, пять положений в полимере длиной десять субъединиц) положений в двух последовательностях являются гомологичными, то эти две последовательности являются гомологичными на 50%; если 90% положений (например, 9 из 10) являются совпадающими или гомологичными, то эти две последовательности являются гомологичными на 90%. Процент "идентичности последовательностей" можно определить

путем сравнения двух оптимально выровненных последовательностей в пределах окна сравнения, при этом для оптимального выравнивания этих двух последовательностей фрагмент аминокислотной последовательности в окне сравнения может содержать добавления или делеции (например, гэпы или выступы) по сравнению с эталонной последовательностью (которая не содержит добавлений или делеций). Процент можно рассчитать путем определения количества положений, в которых в обеих последовательностях встречается идентичный аминокислотный остаток, с получением количества совпадающих положений, деления количества совпадающих положений на общее количество положений в окне сравнения и умножения результата на 100 с получением процента идентичности последовательностей. Результатом является процент идентичности рассматриваемой последовательности относительно запрашиваемой последовательности.

Термин "выделенный" означает измененный относительно природного состояния или извлеченный из него. Например, нуклеиновая кислота или пептид, в естественных условиях присутствующие в живом животном, не являются "выделенными", однако те же нуклеиновая кислота или пептид, частично или полностью отделенные от материалов, сопутствующих им в их природном состоянии, являются "выделенными". Выделенные нуклеиновая кислота или белок могут находиться в по существу очищенной форме или могут находиться в ненативной среде, такой как, например, клетка-хозяин. Выделенное антитело по существу не содержит других антител, имеющих другие типы антигенной специфичности (например, выделенное антитело, которое специфично связывается с ENTPD2, по существу не содержит антител, которые специфично связываются с антигенами, отличными от ENTPD2). Выделенное антитело, которое специфично связывается с молекулой-мишенью, может, однако, характеризоваться перекрестной реактивностью с теми же антигенами из других видов, например, выделенное антитело, которое специфично связывается с ENTPD2, может связываться с молекулами ENTPD2 из других видов. Более того, выделенное антитело может по существу не содержать других клеточного материала и/или химических веществ.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понятно специалисту обычной квалификации в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Хотя при осуществлении на практике настоящего изобретения можно применять способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, ниже описаны подходящие способы и материалы. Все публикации, заявки на патент, патенты и другие литературные источники, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте. В случае противоречия настоящее описание, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Кроме того, материалы, способы и примеры являются исключительно иллюстративными и не предполагаются как ограничивающие.

Подробности одного или нескольких вариантов осуществления настоящего

изобретения изложены в прилагаемых графических материалах и описании ниже. Другие признаки, цели и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из описания и графических материалов, а также из формулы изобретения.

Антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с ENTPD2 человека

В одном аспекте в данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, например, моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с белком ENTPD2 ("антитела к ENTPD2 или антигенсвязывающие фрагменты" или "антитела против ENTPD2 или антигенсвязывающие фрагменты"). В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, например, моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с белком ENTPD2 человека ("человеческие антитела к ENTPD2 или антигенсвязывающие фрагменты" или "антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающие фрагменты").

В некоторых вариантах осуществления антитела к ENTPD2 или их антигенсвязывающие фрагменты (например, антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающие фрагменты), предусмотренные в данном документе, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), CDR2 тяжелой цепи (HCDR2), CDR3 тяжелой цепи (HCDR3), а также CDR1 легкой цепи (LCDR1), CDR2 легкой цепи (LCDR2) и CDR3 легкой цепи (LCDR3). В некоторых вариантах осуществления антитела к ENTPD2 или антигенсвязывающие фрагменты (например, антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающие фрагменты), предусмотренные в данном документе, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR1, CDR2 и CDR3, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую CDR1, CDR2 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления антитела к ENTPD2 или их антигенсвязывающие фрагменты (например, антитела к ENTPD2 человека или антигенсвязывающие фрагменты), предусмотренные в данном документе, содержат последовательность полноразмерной тяжелой цепи (HC) и последовательность полноразмерной легкой цепи (LC).

В таблице 1 перечислены последовательности иллюстративных антител к ENTPD2 или их антигенсвязывающих фрагментов, которые специфично связываются с белком ENTPD2 человека.

Таблица 1. Последовательности иллюстративных моноклональных антител (MAB) и фрагментов антител (FAB), которые связываются с ENTPD2 человека

Антитело MAB1 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (KABAT)	DINPKYDISTYNQQFKG

SEQ ID NO: 3	HCDR3 (KABAT)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTDY
SEQ ID NO: 5	HCDR2 (CHOTHIA)	NPKYDI
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	INPKYDIS
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 10	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYTFTDYNMDWVRQMPGKGLEWMGDINPKYDISTYNQQFKGQVTISADKSIRTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 11	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCTGGCGAGTCCCTGAAGATCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGCGACAGATGCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATGGGCGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCACCTACAACCAGCAGTTCAAGGGCCAAGTGACCATCTCCGCCGACAAGTCCATCCGGACCGCCTACCTGCAGTGGTCCTCCCTGAAGGCCTCTGACACCGCCATGTACTACTGCGCCAGACGGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAACTACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACAGTGTCATCT

SEQ ID NO: 12	HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYTFTD YNMDWVRQMPGKGLEWMGDINPKYDISTY NQQFKGQVTISADKSIRTAYLQWSSLKASDT AMYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 13	ДНК, кодирующая HC	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA AGTGAAGAAGCCTGGCGAGTCCCTGAAGA TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCA CCGACTACAACATGGACTGGGTGCGACAG ATGCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATGGG CGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCAC CTACAACCAGCAGTTCAAGGGCCAAGTGA CCATCTCCGCCGACAAGTCCATCCGGACCG CCTACCTGCAGTGGTCCTCCCTGAAGGCCT CTGACACCGCCATGTACTACTGCGCCAGAC GGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAACT ACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGCA CCCTCGTGACAGTGTCATCTGCTAGCACCA AGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCA GCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTG CCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTG GGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC

		AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCG TGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG GACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 19	LCDR3	WSSYPW

	(CHOTHIA)	
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYIH WFQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGS GSGTFFTLTISSLQPEDFATYFCHQWSSYPWT FGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	ДНК, кодирующая VL	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCCTTCCAGC CTGTCTGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACA ATTACCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGC AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCTAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCTTTTTTA CCCTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCCGAGG ACTTCGCCACCTACTTTTGCCACCAGTGGT CCAGCTACCCCTGGACCTTTGGCCAGGGCA CCAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 23	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYIH WFQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGS GSGTFFTLTISSLQPEDFATYFCHQWSSYPWT FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 24	ДНК, кодирующая LC	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCCTTCCAGC CTGTCTGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACA

		ATTACCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGC AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCTAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCTTTTTTA CCCTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCCGAGG ACTTCGCCACCTACTTTTGCCACCAGTGGT CCAGCTACCCCTGGACCTTTGGCCAGGGCA CCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCC GCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGC GACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAG CGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCC CCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG GAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGA CTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGAC CCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATA AGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG GGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
Антитело MAB2 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (KABAT)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (KABAT)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTDY
SEQ ID NO: 5	HCDR2 (CHOTHIA)	NPKYDI
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD

SEQ ID NO: 2	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	INPKYDIS
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 25	VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQAPGQRLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATITVDKSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO: 26	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA GGTGGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCA CCGACTACAACATGGACTGGGTGAAACAG GCCCCTGGCCAGCGGCTGGAATGGATCGG CGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCAC CTACAACCAGCAGTTCAAGGGCAAGGCCA CCATCACCGTGGACAAGTCCGCCTCCACCG CCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGA CGGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAAC TACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCTCC
SEQ ID NO: 27	HC	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQAPGQRLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATITVDKSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

		VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 28	ДНК, кодирующая HC	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA GGTGGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCA CCGACTACAACATGGACTGGGTGAAACAG GCCCCTGGCCAGCGGCTGGAATGGATCGG CGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCAC CTACAACCAGCAGTTCAAGGGCAAGGCCA CCATCACCGTGGACAAGTCCGCCTCCACCG CCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGA CGGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAAC TACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCTCCGCTAGCACC AAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCC AGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCT GCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCT GGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTC CCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCG TGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG GACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT

		GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (CHOTHIA)	WSSYPW
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY

SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 29	VL	EIVLTQSPATLSASPGERITLSCSASSSVSYIH WYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSG SGTFYTLTISSVEPEDAAVYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 30	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCTGCCAGCCCTGGCGAGCGGATCACC CTGTCCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC CAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCATCCCTGCCAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCTTTTAC ACCCTGACCATCTCCAGCGTGGAACCCGAG GACGCCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTGG TCCAGCTACCCCTGGACCTTCGGCGGAGGC ACCAAGCTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 31	LC	EIVLTQSPATLSASPGERITLSCSASSSVSYIH WYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSG SGTFYTLTISSVEPEDAAVYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 32	ДНК, кодирующая LC	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCTGCCAGCCCTGGCGAGCGGATCACC CTGTCCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC CAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCATCCCTGCCAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCTTTTAC ACCCTGACCATCTCCAGCGTGGAACCCGAG GACGCCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTGG TCCAGCTACCCCTGGACCTTCGGCGGAGGC ACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC

		CGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAG CGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCA GCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACC CCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCAT AAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCA GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACAGGGGCGAGTGC
Антитело MAB3 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (KABAT)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (KABAT)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTDY
SEQ ID NO: 5	HCDR2 (CHOTHIA)	NPKYDI
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	INPKYDIS
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 33	VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQAPGQRLEWIGDINPKYDISTYN

		QQFKGKATITVDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO: 34	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA GGTGGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCA CCGACTACAACATGGACTGGGTGAAACAG GCCCCTGGCCAGCGGCTGGAATGGATCGG CGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCAC CTACAACCAGCAGTTCAAGGGCAAGGCCA CCATCACCGTGGACACCTCCGCCTCCACCG CCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGA CGGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAAC TACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCTCC
SEQ ID NO: 35	HC	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQAPGQRLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATITVDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 36	ДНК, кодирующая HC	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA GGTGGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCA CCGACTACAACATGGACTGGGTGAAACAG

		GCCCCTGGCCAGCGGCTGGAATGGATCGG CGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCAC CTACAACCAGCAGTTCAAGGGCAAGGCCA CCATCACCGTGGACACCTCCGCCTCCACCG CCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGA CGGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAAC TACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCTCCGCTAGCACC AAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCC AGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCT GCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCT GGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTC CCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCG TGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG GACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGAT

		ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (CHOTHIA)	WSSYPW
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 29	VL	EIVLTQSPATLSASPGERITLSCSASSSVSYIH WYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSG SGTFYTLTISSVEPEDAAVYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 30	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCTGCCAGCCCTGGCGAGCGGATCACC CTGTCCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC

		CAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCATCCCTGCCAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCTTTTAC ACCCTGACCATCTCCAGCGTGGAACCCGAG GACGCCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTGG TCCAGCTACCCCTGGACCTTCGGCGGAGGC ACCAAGCTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 31	LC	EIVLTQSPATLSASPGERITLSCSASSSVSYIH WYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSG SGTFYTLTISSVEPEDAAVYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 32	ДНК, кодирующая LC	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCTGCCAGCCCTGGCGAGCGGATCACC CTGTCCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC CAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCATCCCTGCCAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCTTTTAC ACCCTGACCATCTCCAGCGTGGAACCCGAG GACGCCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTGG TCCAGCTACCCCTGGACCTTCGGCGGAGGC ACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAG CGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCA GCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACC CCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCAT AAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCA GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT

		CAACAGGGGCGAGTGC
Антитело MAB4 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 37	HCDR1 (KABAT)	SGYYWN
SEQ ID NO: 38	HCDR2 (KABAT)	YISYDADNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 39	HCDR3 (KABAT)	GYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 40	HCDR1 (CHOTHIA)	GYSITSGY
SEQ ID NO: 41	HCDR2 (CHOTHIA)	SYDAD
SEQ ID NO: 39	HCDR3 (CHOTHIA)	GYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 42	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYSITSGYYWN
SEQ ID NO: 38	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YISYDADNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 39	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	GYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 43	HCDR1 (IMGT)	GYSITSGYY
SEQ ID NO: 44	HCDR2 (IMGT)	ISYDADN
SEQ ID NO: 45	HCDR3 (IMGT)	AGGYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 46	VH	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSG YYWNWIRQHPGKGLEWIGYISYDADNNYNP SLKNRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAGGYYRYGLGSYRGSYYYVMDYWGQ GTTVTVSS
SEQ ID NO: 47	ДНК, кодирующая VH	CAGATCCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGC CTGGTGAAACCCTCCCAGACCCTGTCCCTG ACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCCATCACC TCCGGCTACTACTGGAACTGGATCCGGCAG CACCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGG CTACATCTCCTACGACGCTGACAACAACTA CAACCCCAGCCTGAAGAACAGAGTGACCA

		TCTCCCGGGACACCTCCAAGAACCAGTTCT CCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTGGCGGCT ACTACAGATACGGCCTGGGCTCCTACCGGG GCTCCTACTACTACGTGATGGACTACTGGG GCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCT
SEQ ID NO: 48	HC	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSG YYWNWIRQHPGKGLEWIGYISYDADNNYNP SLKNRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAGGYYRYGLGSYRGSYYYVMDYWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 49	ДНК, кодирующая HC	CAGATCCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGC CTGGTGAAACCCTCCCAGACCCTGTCCCTG ACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCCATCACC TCCGGCTACTACTGGAACTGGATCCGGCAG CACCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGG CTACATCTCCTACGACGCTGACAACAACTA CAACCCCAGCCTGAAGAACAGAGTGACCA TCTCCCGGGACACCTCCAAGAACCAGTTCT CCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTGGCGGCT ACTACAGATACGGCCTGGGCTCCTACCGGG GCTCCTACTACTACGTGATGGACTACTGGG GCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCTG CTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC

		TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGG ACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCT GGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGC ACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACA GTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC TATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCC CAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCC CCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAG GGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAC AACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCA GTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCC AACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAA GACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAC GGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCC AGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA CCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGT GGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACG TGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 50	LCDR1 (KABAT)	KASQSVDYEGHSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (KABAT)	AASNLES

SEQ ID NO: 52	LCDR3 (KABAT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 53	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSVDYEGHSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (CHOTHIA)	AAS
SEQ ID NO: 55	LCDR3 (CHOTHIA)	SNEDPP
SEQ ID NO: 50	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KASQSVDYEGHSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 56	LCDR1 (IMGT)	QSVDYEGHSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (IMGT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 57	VL	ETVLTQSPATLSVSPGERATISCKASQSVDYE GHSYMNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDAATYYCQQS NEDPPTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 58	ДНК, кодирующая VL	GAGACAGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCCGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACC ATCAGCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGAC TACGAAGGCCATTCCTACATGAACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCT GCTGATCTACGCCGCCTCCAACCTGGAATC CGGCATCCCTGCCCGGTTCTCCGGCTCTGG CTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTC CAGCGTGGAACCCGAGGACGCCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTCCAACGAGGACCCC CCCACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGA AATCAAG
SEQ ID NO: 59	LC	ETVLTQSPATLSVSPGERATISCKASQSVDYE GHSYMNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGIP

		ARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDAATYYCQQS NEDPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 60	ДНК, кодирующая LC	GAGACAGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCCGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACC ATCAGCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGAC TACGAAGGCCATTCCTACATGAACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCT GCTGATCTACGCCGCCTCCAACCTGGAATC CGGCATCCCTGCCCGGTTCTCCGGCTCTGG CTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTC CAGCGTGGAACCCGAGGACGCCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTCCAACGAGGACCCC CCCACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGT GTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCT GAAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCC TGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAC CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
Антитело MAB5 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 37	HCDR1 (KABAT)	SGYYWN
SEQ ID NO: 38	HCDR2 (KABAT)	YISYDADNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 39	HCDR3 (KABAT)	GYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 40	HCDR1	GYSITSGY

	(CHOTHIA)	
SEQ ID NO: 41	HCDR2 (CHOTHIA)	SYDAD
SEQ ID NO: 39	HCDR3 (CHOTHIA)	GYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 42	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYSITSGYYWN
SEQ ID NO: 38	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YISYDADNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 39	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	GYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 43	HCDR1 (IMGT)	GYSITSGYY
SEQ ID NO: 44	HCDR2 (IMGT)	ISYDADN
SEQ ID NO: 45	HCDR3 (IMGT)	AGGYYRYGLGSYRGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 46	VH	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSG YYWNWIRQHPGKGLEWIGYISYDADNNYNP SLKNRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAGGYYRYGLGSYRGSYYYVMDYWGQ GTTVTVSS
SEQ ID NO: 47	ДНК, кодирующая VH	CAGATCCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGC CTGGTGAAACCCTCCCAGACCCTGTCCCTG ACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCCATCACC TCCGGCTACTACTGGAACTGGATCCGGCAG CACCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGG CTACATCTCCTACGACGCTGACAACAACTA CAACCCCAGCCTGAAGAACAGAGTGACCA TCTCCCGGGACACCTCCAAGAACCAGTTCT CCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTGGCGGCT ACTACAGATACGGCCTGGGCTCCTACCGGG GCTCCTACTACTACGTGATGGACTACTGGG GCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCT
SEQ ID NO: 48	HC	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSG YYWNWIRQHPGKGLEWIGYISYDADNNYNP

		SLKNRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAGGYYRYGLGSYRGSYYYVMDYWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 49	ДНК, кодирующая HC	CAGATCCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGC CTGGTGAAACCCTCCCAGACCCTGTCCCTG ACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCCATCACC TCCGGCTACTACTGGAACTGGATCCGGCAG CACCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGG CTACATCTCCTACGACGCTGACAACAACTA CAACCCCAGCCTGAAGAACAGAGTGACCA TCTCCCGGGACACCTCCAAGAACCAGTTCT CCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTGGCGGCT ACTACAGATACGGCCTGGGCTCCTACCGGG GCTCCTACTACTACGTGATGGACTACTGGG GCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCTG CTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGG ACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCT GGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGC ACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACA GTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC TATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC

		AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCC CAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCC CCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAG GGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAC AACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCA GTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCC AACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAA GACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAC GGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCC AGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA CCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGT GGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACG TGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 61	LCDR1 (KABAT)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (KABAT)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (KABAT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 62	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSVDYDGNSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (CHOTHIA)	AAS
SEQ ID NO: 55	LCDR3 (CHOTHIA)	SNEDPP

SEQ ID NO: 61	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 63	LCDR1 (IMGT)	QSVDYDGNSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (IMGT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 64	VL	ETVLTQSPATLSVSPGERATISCKASQSVDYD GNSYMNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDAATYYCQQS NEDPPTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 65	ДНК, кодирующая VL	GAGACAGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCCGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACC ATCAGCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGAC TACGACGGCAACTCCTACATGAACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCT GCTGATCTACGCCGCCTCCAACCTGGAATC CGGCATCCCTGCCCGGTTCTCCGGCTCTGG CTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTC CAGCGTGGAACCCGAGGACGCCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTCCAACGAGGACCCC CCCACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGA AATCAAG
SEQ ID NO: 66	LC	ETVLTQSPATLSVSPGERATISCKASQSVDYD GNSYMNWYQQKPGQAPRLLIYAASNLESGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDAATYYCQQS NEDPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 67	ДНК, кодирующая LC	GAGACAGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCCGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACC

		ATCAGCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGAC TACGACGGCAACTCCTACATGAACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCT GCTGATCTACGCCGCCTCCAACCTGGAATC CGGCATCCCTGCCCGGTTCTCCGGCTCTGG CTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTC CAGCGTGGAACCCGAGGACGCCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTCCAACGAGGACCCC CCCACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGT GTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCT GAAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCC TGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAC CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
Антитело MAB6 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 37	HCDR1 (KABAT)	SGYYWN
SEQ ID NO: 38	HCDR2 (KABAT)	YISYDADNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 68	HCDR3 (KABAT)	GYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 40	HCDR1 (CHOTHIA)	GYSITSGY
SEQ ID NO: 41	HCDR2 (CHOTHIA)	SYDAD
SEQ ID NO: 68	HCDR3 (CHOTHIA)	GYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 42	HCDR1	GYSITSGYYWN

	(КОМБИНАЦИЯ)	
SEQ ID NO: 38	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YISYDADNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 68	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	GYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 43	HCDR1 (IMGT)	GYSITSGYY
SEQ ID NO: 44	HCDR2 (IMGT)	ISYDADN
SEQ ID NO: 69	HCDR3 (IMGT)	AGGYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 70	VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSG YYWNWIRQHPGKGLEWMGYISYDADNNYN PSLKNRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAGGYYRYGLGSYSGSYYYVMDYWGQ GTTVTVSS
SEQ ID NO: 71	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGG CCTGGTGAAACCCTCCCAGACCCTGTCCCT GACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCCATCAC CTCCGGCTACTACTGGAACTGGATCCGGCA GCACCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATGG GCTACATCTCCTACGACGCTGACAACAACT ACAACCCCAGCCTGAAGAACAGAATCACC ATCTCCCGGGACACCTCCAAGAACCAGTTC TCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCT GACACCGCCGTGTACTACTGCGCTGGCGGC TACTACAGATACGGCCTGGGCTCCTACTCC GGCTCCTACTACTACGTGATGGACTACTGG GGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCT
SEQ ID NO: 72	HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSG YYWNWIRQHPGKGLEWMGYISYDADNNYN PSLKNRITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAGGYYRYGLGSYSGSYYYVMDYWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL

		GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 73	ДНК, кодирующая HC	CAGGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGG CCTGGTGAAACCCTCCCAGACCCTGTCCCT GACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCCATCAC CTCCGGCTACTACTGGAACTGGATCCGGCA GCACCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATGG GCTACATCTCCTACGACGCTGACAACAACT ACAACCCCAGCCTGAAGAACAGAATCACC ATCTCCCGGGACACCTCCAAGAACCAGTTC TCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCT GACACCGCCGTGTACTACTGCGCTGGCGGC TACTACAGATACGGCCTGGGCTCCTACTCC GGCTCCTACTACTACGTGATGGACTACTGG GGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCTCT GCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCC CTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGC GGAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAG GACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCC TGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTG CACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGC GGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAC AGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGAC CTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGC CCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGC CCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA GGGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGAC CCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT

		GTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAC AACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCA GTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCC AACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAA GACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAC GGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCC AGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA CCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGT GGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACG TGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 50	LCDR1 (KABAT)	KASQSVDYEGHSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (KABAT)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (KABAT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 53	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSVDYEGHSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (CHOTHIA)	AAS
SEQ ID NO: 55	LCDR3 (CHOTHIA)	SNEDPP
SEQ ID NO: 50	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KASQSVDYEGHSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQSNEDPPT

SEQ ID NO: 56	LCDR1 (IMGT)	QSVDYEGHSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (IMGT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 74	VL	DTQMTQSPSSLSVSVGDRATITCKASQSVDY EGHSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQ QSNEDPPTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 75	ДНК, кодирующая VL	GACACCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCTCC CTGTCCGTGTCCGTGGGCGACAGAGCCACC ATCACATGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGAC TACGAAGGCCATTCCTACATGAACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCT GCTGATCTACGCCGCCTCCAACCTGGAATC CGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCCGG CTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTC CAGCGTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGTCCAACGAGGACCCCC CCACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAA ATCAAG
SEQ ID NO: 76	LC	DTQMTQSPSSLSVSVGDRATITCKASQSVDY EGHSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQ QSNEDPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 77	ДНК, кодирующая LC	GACACCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCTCC CTGTCCGTGTCCGTGGGCGACAGAGCCACC ATCACATGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGAC TACGAAGGCCATTCCTACATGAACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCT GCTGATCTACGCCGCCTCCAACCTGGAATC CGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCCGG CTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTC CAGCGTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA

		CTACTGCCAGCAGTCCAACGAGGACCCCC CCACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAA ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTG TTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTG AAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAC CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
Антитело MAB7 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (KABAT)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (KABAT)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTDY
SEQ ID NO: 5	HCDR2 (CHOTHIA)	NPKYDI
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	INPKYDIS

SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 25	VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQAPGQRLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATITVDKSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO: 26	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA GGTGGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCA CCGACTACAACATGGACTGGGTGAAACAG GCCCCTGGCCAGCGGCTGGAATGGATCGG CGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCAC CTACAACCAGCAGTTCAAGGGCAAGGCCA CCATCACCGTGGACAAGTCCGCCTCCACCG CCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGA CGGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAAC TACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCTCC
SEQ ID NO: 27	HC	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQAPGQRLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATITVDKSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 28	ДНК,	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA

	кодирующая HC	GGTGGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCA CCGACTACAACATGGACTGGGTGAAACAG GCCCCTGGCCAGCGGCTGGAATGGATCGG CGACATCAACCCTAAGTACGACATCTCCAC CTACAACCAGCAGTTCAAGGGCAAGGCCA CCATCACCGTGGACAAGTCCGCCTCCACCG CCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGA CGGGGCTTCTTCCTGTACTACGGCATCAAC TACTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCTCCGCTAGCACC AAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCC AGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCT GCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCT GGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTC CCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCG TGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG GACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA

		GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (CHOTHIA)	WSSYPW
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 78	VL	EIVLTQSPATLSASPGEEITLSCSASSSVSYIH WYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSG SGTFYTLTISSVEPEDAAVYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 79	ДНК,	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC

	кодирующая VL	CTGTCTGCCAGCCCTGGCGAGGAGATCACC CTGTCCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC CAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCATCCCTGCCAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCTTTTAC ACCCTGACCATCTCCAGCGTGGAACCCGAG GACGCCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTGG TCCAGCTACCCCTGGACCTTCGGCGGAGGC ACCAAGCTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 80	LC	EIVLTQSPATLSASPGEEITLSCSASSSVSYIH WYQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSG SGTFYTLTISSVEPEDAAVYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 81	ДНК, кодирующая LC	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACC CTGTCTGCCAGCCCTGGCGAGGAGATCACC CTGTCCTGCTCCGCCTCCTCCTCCGTGTCCT ACATCCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC CAGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACTCCACC TCCAACCTGGCCTCCGGCATCCCTGCCAGA TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCTTTTAC ACCCTGACCATCTCCAGCGTGGAACCCGAG GACGCCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTGG TCCAGCTACCCCTGGACCTTCGGCGGAGGC ACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAG CGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCA GCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACC CCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGA

		CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCAT AAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCA GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACAGGGGCGAGTGC
Антитело MAB8 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 82	HCDR1 (KABAT)	SSSAAWN
SEQ ID NO: 83	HCDR2 (KABAT)	RIYYRSKWYNDYAVSVKS
SEQ ID NO: 84	HCDR3 (KABAT)	GSYVTSSYEGFDY
SEQ ID NO: 85	HCDR1 (CHOTHIA)	GDSVSSSSA
SEQ ID NO: 86	HCDR2 (CHOTHIA)	YYRSKWY
SEQ ID NO: 84	HCDR3 (CHOTHIA)	GSYVTSSYEGFDY
SEQ ID NO: 87	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GDSVSSSSAAWN
SEQ ID NO: 83	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	RIYYRSKWYNDYAVSVKS
SEQ ID NO: 84	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	GSYVTSSYEGFDY
SEQ ID NO: 88	HCDR1 (IMGT)	GDSVSSSSAA
SEQ ID NO: 89	HCDR2 (IMGT)	IYYRSKWYN
SEQ ID NO: 90	HCDR3 (IMGT)	ARGSYVTSSYEGFDY
SEQ ID NO: 91	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSS SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDT AVYYCARGSYVTSSYEGFDYWGQGTLVTVS S
SEQ ID NO: 92	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGG CCTGGTGAAACCGAGCCAGACCCTGAGCC TGACCTGCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGA GCTCTAGCTCTGCTGCTTGGAACTGGATTC

		GTCAGAGCCCGAGCCGTGGCCTCGAGTGG CTGGGCCGTATCTACTACCGTAGCAAATGG TACAACGACTATGCCGTGAGCGTGAAAAG CCGCATTACCATTAACCCGGATACTTCGAA AAACCAGTTTAGCCTGCAACTGAACAGCGT GACCCCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTTCTTACGTTACTTCTTCTTAC GAAGGTTTCGATTACTGGGGCCAAGGCAC CCTGGTGACTGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 93	HC	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSS SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDT AVYYCARGSYVTSSYEGFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 94	ДНК, кодирующая HC	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGG CCTGGTGAAACCGAGCCAGACCCTGAGCC TGACCTGCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGA GCTCTAGCTCTGCTGCTTGGAACTGGATTC GTCAGAGCCCGAGCCGTGGCCTCGAGTGG CTGGGCCGTATCTACTACCGTAGCAAATGG TACAACGACTATGCCGTGAGCGTGAAAAG CCGCATTACCATTAACCCGGATACTTCGAA AAACCAGTTTAGCCTGCAACTGAACAGCGT GACCCCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTTCTTACGTTACTTCTTCTTAC

		GAAGGTTTCGATTACTGGGGCCAAGGCAC CCTGGTGACTGTTAGCTCAGCCTCCACCAA GGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTT GTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCC CAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGA AGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG ATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAG GTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG

		TAAA
SEQ ID NO: 95	LCDR1 (KABAT)	SGDNLPEKYAY
SEQ ID NO: 96	LCDR2 (KABAT)	DDNKRPS
SEQ ID NO: 97	LCDR3 (KABAT)	QSYGKWGWTWV
SEQ ID NO: 98	LCDR1 (CHOTHIA)	DNLPEKY
SEQ ID NO: 99	LCDR2 (CHOTHIA)	DDN
SEQ ID NO: 100	LCDR3 (CHOTHIA)	YGKWGWTW
SEQ ID NO: 95	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SGDNLPEKYAY
SEQ ID NO: 96	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DDNKRPS
SEQ ID NO: 97	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QSYGKWGWTWV
SEQ ID NO: 101	LCDR1 (IMGT)	NLPEKY
SEQ ID NO: 99	LCDR2 (IMGT)	DDN
SEQ ID NO: 97	LCDR3 (IMGT)	QSYGKWGWTWV
SEQ ID NO: 102	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLPEKY AYWYQQKPGQAPVLVIYDDNKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCQSYGK WGWTWVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 103	ДНК, кодирующая VL	AGCTACGAACTGACCCAGCCGCTGTCCGTG AGCGTGGCTCTGGGCCAGACCGCGCGGAT TACCTGTAGCGGCGATAACCTGCCGGAAA AATACGCTTACTGGTACCAGCAGAAACCG GGCCAGGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGA CGACAACAAACGTCCGAGCGGCATCCCGG AACGTTTTAGCGGATCCAACAGCGGCAAC ACCGCGACCCTGACCATTAGCCGCGCCCA GGCGGGAGACGAAGCGGATTATTACTGCC AGTCTTACGGTAAATGGGGTTGGACTTGGG TGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCC

		TA
SEQ ID NO: 104	LC	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLPEKY AYWYQQKPGQAPVLVIYDDNKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCQSYGK WGWTWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD SSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 105	ДНК, кодирующая LC	AGCTACGAACTGACCCAGCCGCTGTCCGTG AGCGTGGCTCTGGGCCAGACCGCGCGGAT TACCTGTAGCGGCGATAACCTGCCGGAAA AATACGCTTACTGGTACCAGCAGAAACCG GGCCAGGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGA CGACAACAAACGTCCGAGCGGCATCCCGG AACGTTTTAGCGGATCCAACAGCGGCAAC ACCGCGACCCTGACCATTAGCCGCGCCCA GGCGGGAGACGAAGCGGATTATTACTGCC AGTCTTACGGTAAATGGGGTTGGACTTGGG TGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCC TAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCA CTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTC AAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTC ATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACA GTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGT CAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCT CCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCC AGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCA GTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCC AGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAG AAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA
Антитело MAB9 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 106	HCDR1 (KABAT)	SYAVS
SEQ ID NO: 107	HCDR2 (KABAT)	RIVPWLGHTQYAQKFQG

SEQ ID NO: 108	HCDR3 (KABAT)	ESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 109	HCDR1 (CHOTHIA)	GGTFDSY
SEQ ID NO: 110	HCDR2 (CHOTHIA)	VPWLGH
SEQ ID NO: 108	HCDR3 (CHOTHIA)	ESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 111	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GGTFDSYAVS
SEQ ID NO: 107	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	RIVPWLGHTQYAQKFQG
SEQ ID NO: 108	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	ESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 112	HCDR1 (IMGT)	GGTFDSYA
SEQ ID NO: 113	HCDR2 (IMGT)	IVPWLGHT
SEQ ID NO: 114	HCDR3 (IMGT)	ARESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 115	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFD SYAVSWVRQAPGQGLEWMGRIVPWLGHTQ YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARESPGYRYSFDVWDQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 116	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGA AGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAG TTAGCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTG ACTCTTACGCTGTTTCTTGGGTGCGCCAGG CCCCGGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGC CGTATCGTTCCGTGGCTGGGCCATACTCAG TACGCCCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGAC CATTACCGCCGATGAAAGCACCAGCACCG CCTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGCAGC GAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGT GAATCTCCGGGTTACCGTTACTCTTTCGAT GTTTGGGACCAAGGCACCCTGGTGACTGTT AGCTCA
SEQ ID NO: 117	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFD

		SYAVSWVRQAPGQGLEWMGRIVPWLGHTQ YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARESPGYRYSFDVWDQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 118	ДНК, кодирующая HC	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGA AGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAG TTAGCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTG ACTCTTACGCTGTTTCTTGGGTGCGCCAGG CCCCGGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGC CGTATCGTTCCGTGGCTGGGCCATACTCAG TACGCCCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGAC CATTACCGCCGATGAAAGCACCAGCACCG CCTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGCAGC GAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGT GAATCTCCGGGTTACCGTTACTCTTTCGAT GTTTGGGACCAAGGCACCCTGGTGACTGTT AGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACC TCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA

		GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAG TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCC TGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG GAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCC TCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
SEQ ID NO: 119	LCDR1 (KABAT)	SGDAIGEKYVY
SEQ ID NO: 120	LCDR2 (KABAT)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 121	LCDR3 (KABAT)	ASYDLQQARWV
SEQ ID NO: 122	LCDR1 (CHOTHIA)	DAIGEKY
SEQ ID NO: 99	LCDR2 (CHOTHIA)	DDN
SEQ ID NO: 123	LCDR3 (CHOTHIA)	YDLQQARW

SEQ ID NO: 119	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SGDAIGEKYVY
SEQ ID NO: 120	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 121	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	ASYDLQQARWV
SEQ ID NO: 124	LCDR1 (IMGT)	AIGEKY
SEQ ID NO: 99	LCDR2 (IMGT)	DDN
SEQ ID NO: 121	LCDR3 (IMGT)	ASYDLQQARWV
SEQ ID NO: 125	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDAIGEKYV YWYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCASYDLQQ ARWVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 126	ДНК, кодирующая VL	AGCTACGAACTGACCCAGCCGCTGTCCGTG AGCGTGGCTCTGGGCCAGACCGCGCGGAT TACCTGTAGCGGCGATGCTATCGGTGAAAA ATACGTTTACTGGTACCAGCAGAAACCGG GCCAGGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGAC GACAACAACCGTCCGAGCGGCATCCCGGA ACGTTTTAGCGGATCCAACAGCGGCAACA CCGCGACCCTGACCATTAGCCGCGCCCAG GCGGGAGACGAAGCGGATTATTACTGCGC TTCTTACGACCTGCAGCAGGCTCGTTGGGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCT A
SEQ ID NO: 127	LC	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDAIGEKYV YWYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCASYDLQQ ARWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 128	ДНК, кодирующая LC	AGCTACGAACTGACCCAGCCGCTGTCCGTG AGCGTGGCTCTGGGCCAGACCGCGCGGAT

		TACCTGTAGCGGCGATGCTATCGGTGAAAA ATACGTTTACTGGTACCAGCAGAAACCGG GCCAGGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGAC GACAACAACCGTCCGAGCGGCATCCCGGA ACGTTTTAGCGGATCCAACAGCGGCAACA CCGCGACCCTGACCATTAGCCGCGCCCAG GCGGGAGACGAAGCGGATTATTACTGCGC TTCTTACGACCTGCAGCAGGCTCGTTGGGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCT AGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCA AGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCAT AAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGT GGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCA AGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCC AAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAG CAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTG GAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGG TCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAG ACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA
Антитело MAB10 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 106	HCDR1 (KABAT)	SYAVS
SEQ ID NO: 129	HCDR2 (KABAT)	RIVPWLGFTRYAQKFQG
SEQ ID NO: 108	HCDR3 (KABAT)	ESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 109	HCDR1 (CHOTHIA)	GGTFDSY
SEQ ID NO: 130	HCDR2 (CHOTHIA)	VPWLGF
SEQ ID NO: 108	HCDR3 (CHOTHIA)	ESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 111	HCDR1	GGTFDSYAVS

	(КОМБИНАЦИЯ)	
SEQ ID NO: 129	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	RIVPWLGFTRYAQKFQG
SEQ ID NO: 108	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	ESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 112	HCDR1 (IMGT)	GGTFDSYA
SEQ ID NO: 131	HCDR2 (IMGT)	IVPWLGFT
SEQ ID NO: 114	HCDR3 (IMGT)	ARESPGYRYSFDV
SEQ ID NO: 132	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFD SYAVSWVRQAPGQGLEWMGRIVPWLGFTR YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARESPGYRYSFDVWDQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 133	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGA AGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAG TTAGCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTG ACTCTTACGCTGTTTCTTGGGTGCGCCAGG CCCCGGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGC CGTATCGTTCCGTGGCTGGGCTTCACTCGT TACGCCCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGAC CATTACCGCCGATGAAAGCACCAGCACCG CCTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGCAGC GAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGT GAATCTCCGGGTTACCGTTACTCTTTCGAT GTTTGGGACCAAGGCACCCTGGTGACTGTT AGCTCA
SEQ ID NO: 134	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFD SYAVSWVRQAPGQGLEWMGRIVPWLGFTR YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARESPGYRYSFDVWDQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK

		FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 135	ДНК, кодирующая НС	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGA AGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAG TTAGCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTG ACTCTTACGCTGTTTCTTGGGTGCGCCAGG CCCCGGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGC CGTATCGTTCCGTGGCTGGGCTTCACTCGT TACGCCCAGAAATTTCAGGGCCGGGTGAC CATTACCGCCGATGAAAGCACCAGCACCG CCTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGCAGC GAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGT GAATCTCCGGGTTACCGTTACTCTTTCGAT GTTTGGGACCAAGGCACCCTGGTGACTGTT AGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACC TCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAG TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCC TGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG

		TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG GAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCC TCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
SEQ ID NO: 119	LCDR1 (KABAT)	SGDAIGEKYVY
SEQ ID NO: 120	LCDR2 (KABAT)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 121	LCDR3 (KABAT)	ASYDLQQARWV
SEQ ID NO: 122	LCDR1 (CHOTHIA)	DAIGEKY
SEQ ID NO: 99	LCDR2 (CHOTHIA)	DDN
SEQ ID NO: 123	LCDR3 (CHOTHIA)	YDLQQARW
SEQ ID NO: 119	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SGDAIGEKYVY
SEQ ID NO: 120	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 121	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	ASYDLQQARWV
SEQ ID NO: 124	LCDR1 (IMGT)	AIGEKY
SEQ ID NO: 99	LCDR2 (IMGT)	DDN

SEQ ID NO: 121	LCDR3 (IMGT)	ASYDLQQARWV
SEQ ID NO: 125	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDAIGEKYV YWYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCASYDLQQ ARWVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 126	ДНК, кодирующая VL	AGCTACGAACTGACCCAGCCGCTGTCCGTG AGCGTGGCTCTGGGCCAGACCGCGCGGAT TACCTGTAGCGGCGATGCTATCGGTGAAAA ATACGTTTACTGGTACCAGCAGAAACCGG GCCAGGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGAC GACAACAACCGTCCGAGCGGCATCCCGGA ACGTTTTAGCGGATCCAACAGCGGCAACA CCGCGACCCTGACCATTAGCCGCGCCCAG GCGGGAGACGAAGCGGATTATTACTGCGC TTCTTACGACCTGCAGCAGGCTCGTTGGGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCT A
SEQ ID NO: 127	LC	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDAIGEKYV YWYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCASYDLQQ ARWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 128	ДНК, кодирующая LC	AGCTACGAACTGACCCAGCCGCTGTCCGTG AGCGTGGCTCTGGGCCAGACCGCGCGGAT TACCTGTAGCGGCGATGCTATCGGTGAAAA ATACGTTTACTGGTACCAGCAGAAACCGG GCCAGGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGAC GACAACAACCGTCCGAGCGGCATCCCGGA ACGTTTTAGCGGATCCAACAGCGGCAACA CCGCGACCCTGACCATTAGCCGCGCCCAG GCGGGAGACGAAGCGGATTATTACTGCGC TTCTTACGACCTGCAGCAGGCTCGTTGGGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCT

		AGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCA AGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCAT AAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGT GGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCA AGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCC AAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAG CAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTG GAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGG TCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAG ACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA
Антитело MAB11 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 136	HCDR1 (KABAT)	SYAMS
SEQ ID NO: 137	HCDR2 (KABAT)	VISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 138	HCDR3 (KABAT)	GDDYGDDYYYYGMDV
SEQ ID NO: 139	HCDR1 (CHOTHIA)	GFTFSSY
SEQ ID NO: 140	HCDR2 (CHOTHIA)	SGSGGS
SEQ ID NO: 138	HCDR3 (CHOTHIA)	GDDYGDDYYYYGMDV
SEQ ID NO: 141	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 137	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	VISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 138	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	GDDYGDDYYYYGMDV
SEQ ID NO: 142	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 143	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
SEQ ID NO: 144	HCDR3 (IMGT)	ARGDDYGDDYYYYGMDV

SEQ ID NO: 145	VH	EVQLLESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGDDYGDDYYYYGMDVWGQGTTV TVSS
SEQ ID NO: 146	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGTCTGGGGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAG CAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAG TTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACC ATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG AGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGA GGGGATGACTACGGTGACGACTACTACTA CTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 147	HC	EVQLLESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGDDYGDDYYYYGMDVWGQGTTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 148	ДНК, кодирующая HC	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGTCTGGGGGGTCCCTGAGACT

		CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAG CAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAG TTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACC ATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG AGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGA GGGGATGACTACGGTGACGACTACTACTA CTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCA AGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCA GCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTG CCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTG GGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCG TGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG GACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGG

		AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 149	LCDR1 (KABAT)	RSSQSLLHGNRYNYLD
SEQ ID NO: 150	LCDR2 (KABAT)	LGSNRAS
SEQ ID NO: 151	LCDR3 (KABAT)	MQALQTPPT
SEQ ID NO: 152	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSLLHGNRYNY
SEQ ID NO: 153	LCDR2 (CHOTHIA)	LGS
SEQ ID NO: 154	LCDR3 (CHOTHIA)	ALQTPP
SEQ ID NO: 149	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	RSSQSLLHGNRYNYLD
SEQ ID NO: 150	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	LGSNRAS
SEQ ID NO: 151	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	MQALQTPPT
SEQ ID NO: 155	LCDR1 (IMGT)	QSLLHGNRYNY
SEQ ID NO: 153	LCDR2 (IMGT)	LGS
SEQ ID NO: 151	LCDR3 (IMGT)	MQALQTPPT
SEQ ID NO: 156	VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHGN RYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ ALQTPPTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 157	ДНК, кодирующая VL	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCC CTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC

		ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTG CATGGTAATCGATACAACTATTTGGATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACA GCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGC CTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAG TGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAAT CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGG TTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTC CTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTG GAAATCAAA
SEQ ID NO: 158	LC	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHGN RYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ ALQTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 159	ДНК, кодирующая LC	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCC CTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTG CATGGTAATCGATACAACTATTTGGATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACA GCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGC CTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAG TGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAAT CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGG TTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTC CTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTG GAAATCAAACGAACTGTGGCTGCACCAAG CGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGTGT GCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGG CCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCC CTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGT CACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT

		ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTA CGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTC CAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGG GCGAGTGC
Антитело MAB12 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 160	HCDR1 (KABAT)	SCSMN
SEQ ID NO: 161	HCDR2 (KABAT)	YISSSSSTIYYADSVKG
SEQ ID NO: 162	HCDR3 (KABAT)	DQGNWNYDDYYNGLDV
SEQ ID NO: 163	HCDR1 (CHOTHIA)	GFTFNSC
SEQ ID NO: 164	HCDR2 (CHOTHIA)	SSSSST
SEQ ID NO: 162	HCDR3 (CHOTHIA)	DQGNWNYDDYYNGLDV
SEQ ID NO: 165	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GFTFNSCSMN
SEQ ID NO: 161	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YISSSSSTIYYADSVKG
SEQ ID NO: 162	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	DQGNWNYDDYYNGLDV
SEQ ID NO: 166	HCDR1 (IMGT)	GFTFNSCS
SEQ ID NO: 167	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSTI
SEQ ID NO: 168	HCDR3 (IMGT)	ARDQGNWNYDDYYNGLDV
SEQ ID NO: 169	VH	EVLLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNS CSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKDEDTAV YYCARDQGNWNYDDYYNGLDVWGQGTTV TVSS
SEQ ID NO: 170	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCTGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT

		CTCCTGTGCAGCCTCTGGGTTCACCTTCAA TAGCTGTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCAT ACATTAGTAGTAGTAGTAGTACCATTTACT ACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACC ATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAGACG AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATCAGGGTAACTGGAACTACGACGACTA CTACAACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAG GGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 171	HC	EVLLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNS CSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKDEDTAV YYCARDQGNWNYDDYYNGLDVWGQGTTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 172	ДНК, кодирующая HC	GAGGTGCTGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGGTTCACCTTCAA TAGCTGTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCAT ACATTAGTAGTAGTAGTAGTACCATTTACT ACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACC ATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAGACG

		AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATCAGGGTAACTGGAACTACGACGACTA CTACAACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAG GGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCA CCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCC CCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTG CTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACT TCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACT CTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT ACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCC TCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACAC CAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGA GCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCT GCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTT CCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGG ACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAG GTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAC GAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCA AGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACC GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAA AGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGG CCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATC AGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCC CCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTG ACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGC GATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGG CCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCC CCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGT CCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGC

		TGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAA CCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAG CCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 173	LCDR1 (KABAT)	RSSQSLLHSNGYNYLD
SEQ ID NO: 150	LCDR2 (KABAT)	LGSNRAS
SEQ ID NO: 174	LCDR3 (KABAT)	MQALQTPLT
SEQ ID NO: 175	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSLLHSNGYNY
SEQ ID NO: 153	LCDR2 (CHOTHIA)	LGS
SEQ ID NO: 176	LCDR3 (CHOTHIA)	ALQTPL
SEQ ID NO: 173	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	RSSQSLLHSNGYNYLD
SEQ ID NO: 150	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	LGSNRAS
SEQ ID NO: 174	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	MQALQTPLT
SEQ ID NO: 177	LCDR1 (IMGT)	QSLLHSNGYNY
SEQ ID NO: 153	LCDR2 (IMGT)	LGS
SEQ ID NO: 174	LCDR3 (IMGT)	MQALQTPLT
SEQ ID NO: 178	VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSN GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QALQTPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 179	ДНК, кодирующая VL	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCC CTGCCCGTCACTCCTGGAGAGCCGGCCTCC ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTG CATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACA GCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGC CTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAG TGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAAT CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGG

		TTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTC CTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGG AGATCAAA
SEQ ID NO: 180	LC	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSN GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QALQTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C
SEQ ID NO: 181	ДНК, кодирующая LC	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCC CTGCCCGTCACTCCTGGAGAGCCGGCCTCC ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTG CATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACA GCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGC CTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAG TGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAAT CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGG TTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTC CTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGG AGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGC GTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGC CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCC TGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTC ACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTA CAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTAC GCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCC AGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGG CGAGTGC
Антитело		

MAB16 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 37	HCDR1 (KABAT)	SGYYWN
SEQ ID NO: 220	HCDR2 (KABAT)	YISYDGDNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 221	HCDR3 (KABAT)	GYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 40	HCDR1 (CHOTHIA)	GYSITSGY
SEQ ID NO: 222	HCDR2 (CHOTHIA)	SYDGD
SEQ ID NO: 221	HCDR3 (CHOTHIA)	GYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 42	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYSITSGYYWN
SEQ ID NO: 220	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YISYDGDNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 221	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	GYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 43	HCDR1 (IMGT)	GYSITSGYY
SEQ ID NO: 223	HCDR2 (IMGT)	ISYDGDN
SEQ ID NO: 224	HCDR3 (IMGT)	AGGYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 225	VH	DIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSG YYWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGDNNYN PSLKNRISITRDTSKNQFFLKLSSVTTEDTATY YCAGGYYRYGLSYYYVMDYWGQGTSVTVS S
SEQ ID NO: 226	ДНК, кодирующая VH	GATATACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGG CCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTC ACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACC AGTGGTTATTACTGGAACTGGATCCGGCAG TTTCCAGGAAACAAACTGGAATGGATGGG CTACATAAGCTACGACGGTGACAATAACT ACAACCCATCTCTCAAAAATCGAATCTCCA TCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTT

		TCCTGAAGTTGAGTTCTGTGACTACTGAGG ACACAGCTACATATTACTGTGCAGGAGGCT ACTATAGGTACGGCCTGTCGTATTACTATG TTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAG TCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 227	HC	DIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSG YYWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGDNNYN PSLKNRISITRDTSKNQFFLKLSSVTTEDTATY YCAGGYYRYGLSYYYVMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 228	ДНК, кодирующая HC	GATATACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGG CCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTC ACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACC AGTGGTTATTACTGGAACTGGATCCGGCAG TTTCCAGGAAACAAACTGGAATGGATGGG CTACATAAGCTACGACGGTGACAATAACT ACAACCCATCTCTCAAAAATCGAATCTCCA TCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTT TCCTGAAGTTGAGTTCTGTGACTACTGAGG ACACAGCTACATATTACTGTGCAGGAGGCT ACTATAGGTACGGCCTGTCGTATTACTATG TTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAG TCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCC CAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCA AGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGG

		GTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGC CCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTC TGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTG AGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCT CTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACA AGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCTC CAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCC TGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGA TGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCC AGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTA CAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACA AGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCA GCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGC CAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGT ACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTG GTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGA GAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGTGC TGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACA GCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGG CAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA CCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGC AAG
SEQ ID NO: 61	LCDR1 (KABAT)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (KABAT)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (KABAT)	QQSNEDPPT

SEQ ID NO: 62	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSVDYDGNSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (CHOTHIA)	AAS
SEQ ID NO: 55	LCDR3 (CHOTHIA)	SNEDPP
SEQ ID NO: 61	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 63	LCDR1 (IMGT)	QSVDYDGNSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (IMGT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 229	VL	DTVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDY DGNSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ QSNEDPPTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 230	ДНК, кодирующая VL	GACACTGTGCTGACCCAATCTCCAGCCTCT TTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACC ATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGAT TATGATGGTAATAGTTATATGAACTGGTAC CAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACT CCTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATC TGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCA TCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCTC CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA ATCAAA
SEQ ID NO: 231	LC	DTVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDY DGNSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ

		QSNEDPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 232	ДНК, кодирующая LC	GACACTGTGCTGACCCAATCTCCAGCCTCT TTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACC ATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGAT TATGATGGTAATAGTTATATGAACTGGTAC CAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACT CCTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATC TGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCA TCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCTC CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA ATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTG TTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTG AAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAC CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
Антитело MAB17 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (KABAT)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (KABAT)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1	GYTFTDY

	(CHOTHIA)	
SEQ ID NO: 5	HCDR2 (CHOTHIA)	NPKYDI
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	INPKYDIS
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 233	VH	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGAGTTVT VSS
SEQ ID NO: 234	ДНК, кодирующая VH	GAGGTCCAACTGCAACAGTTTGGAGCTGA ACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAAGTATGATATTTCTAC CTACAATCAGCAATTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTATTGTGCAAGAA GAGGCTTTTTTCTTTACTACGGTATTAACTA CTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGAC CACGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 235	HC	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPKYDISTYN

		QQFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGAGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 236	ДНК, кодирующая HC	GAGGTCCAACTGCAACAGTTTGGAGCTGA ACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAAGTATGATATTTCTAC CTACAATCAGCAATTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTATTGTGCAAGAA GAGGCTTTTTTCTTTACTACGGTATTAACTA CTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGAC CACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAA GGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAG CAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTGC CCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGG GGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCC CGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACA GCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCA GCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAG

		GTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTG CGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCC AGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGT GTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACAC CCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGA CCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGAC CAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCA CCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAA TACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCT GCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCA AGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAG GTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGA GATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCT GTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG CCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCC AGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCT GTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGC AGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCA CTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCC CGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (CHOTHIA)	WSSYPW

SEQ ID NO: 14	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 237	VL	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYIH WYQQKSGTSPTLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 238	ДНК, кодирующая VL	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATACACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCACACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAATCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 239	LC	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYIH WYQQKSGTSPTLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 240	ДНК, кодирующая LC	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT

		TACATACACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCACACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAATCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAACGTACGGTGG CCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG GACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCA TAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Антитело MAB18 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 37	HCDR1 (KABAT)	SGYYWN
SEQ ID NO: 220	HCDR2 (KABAT)	YISYDGDNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 68	HCDR3 (KABAT)	GYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 40	HCDR1 (CHOTHIA)	GYSITSGY
SEQ ID NO: 222	HCDR2 (CHOTHIA)	SYDGD
SEQ ID NO: 68	HCDR3 (CHOTHIA)	GYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 42	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYSITSGYYWN

SEQ ID NO: 220	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YISYDGDNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 68	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	GYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 43	HCDR1 (IMGT)	GYSITSGYY
SEQ ID NO: 223	HCDR2 (IMGT)	ISYDGDN
SEQ ID NO: 69	HCDR3 (IMGT)	AGGYYRYGLGSYSGSYYYVMDY
SEQ ID NO: 241	VH	DIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSG YYWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGDNNYN PSLKNRISITRDTSKNQFFLKLSSVTTEDTATY YCAGGYYRYGLGSYSGSYYYVMDYWGQGT SVTVSS
SEQ ID NO: 242	ДНК, кодирующая VH	GATATACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGG CCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTC ACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACC AGTGGTTATTACTGGAACTGGATCCGGCAG TTTCCAGGAAACAAACTGGAATGGATGGG CTACATAAGCTACGACGGTGACAATAACT ACAACCCATCTCTCAAAAATCGAATCTCCA TCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTT TCCTGAAGTTGAGTTCTGTGACTACTGAGG ACACAGCTACATATTACTGTGCAGGAGGCT ACTATAGGTACGGCCTGGGCTCCTACTCCG GCTCGTATTACTATGTTATGGACTACTGGG GTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 243	HC	DIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSG YYWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGDNNYN PSLKNRISITRDTSKNQFFLKLSSVTTEDTATY YCAGGYYRYGLGSYSGSYYYVMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE

		DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 244	ДНК, кодирующая HC	GATATACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGG CCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTC ACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACC AGTGGTTATTACTGGAACTGGATCCGGCAG TTTCCAGGAAACAAACTGGAATGGATGGG CTACATAAGCTACGACGGTGACAATAACT ACAACCCATCTCTCAAAAATCGAATCTCCA TCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTT TCCTGAAGTTGAGTTCTGTGACTACTGAGG ACACAGCTACATATTACTGTGCAGGAGGCT ACTATAGGTACGGCCTGGGCTCCTACTCCG GCTCGTATTACTATGTTATGGACTACTGGG GTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAG CTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGG ACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCT GGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGC ACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACA GTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC TATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCC CAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCC CCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAG GGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCA

		ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAC AACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCA GTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCC AACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAA GACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAC GGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCC AGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA CCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGT GGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACG TGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 61	LCDR1 (KABAT)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (KABAT)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (KABAT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 62	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSVDYDGNSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (CHOTHIA)	AAS
SEQ ID NO: 55	LCDR3 (CHOTHIA)	SNEDPP
SEQ ID NO: 61	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 63	LCDR1 (IMGT)	QSVDYDGNSY

SEQ ID NO: 54	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (IMGT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 229	VL	DTVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDY DGNSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ QSNEDPPTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 230	ДНК, кодирующая VL	GACACTGTGCTGACCCAATCTCCAGCCTCT TTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACC ATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGAT TATGATGGTAATAGTTATATGAACTGGTAC CAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACT CCTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATC TGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCA TCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCTC CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA ATCAAA
SEQ ID NO: 231	LC	DTVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDY DGNSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ QSNEDPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 232	ДНК, кодирующая LC	GACACTGTGCTGACCCAATCTCCAGCCTCT TTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACC ATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGAT TATGATGGTAATAGTTATATGAACTGGTAC CAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACT CCTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATC TGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCA TCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCTC

		CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA ATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTG TTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTG AAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAC CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
Антитело MAB19 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 245	HCDR2 (KABAT)	DINPNYDITTYNQRFKG
SEQ ID NO: 246	HCDR3 (KABAT)	RGFFPYYGNSYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTDY
SEQ ID NO: 247	HCDR2 (CHOTHIA)	NPNYDI
SEQ ID NO: 246	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFPYYGNSYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO: 245	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPNYDITTYNQRFKG
SEQ ID NO: 246	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFPYYGNSYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 248	HCDR2 (IMGT)	INPNYDIT

SEQ ID NO: 249	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFPYYGNSYYYFDV
SEQ ID NO: 250	VH	EVQLQQFGAELVKPGTSVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNYDITTYN QRFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFPYYGNSYYYFDVWGAGTTVT VSS
SEQ ID NO: 251	ДНК, кодирующая VH	GAGGTCCAGCTGCAACAGTTTGGAGCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAACTATGATATTACTAC CTACAACCAGAGGTTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAA GAGGATTTTTTCCTTATTACGGTAATAGCT ACTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 252	HC	EVQLQQFGAELVKPGTSVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNYDITTYN QRFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFPYYGNSYYYFDVWGAGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 253	ДНК,	GAGGTCCAGCTGCAACAGTTTGGAGCTGA

	кодирующая HC	GCTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAACTATGATATTACTAC CTACAACCAGAGGTTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAA GAGGATTTTTTCCTTATTACGGTAATAGCT ACTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCA AGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCA GCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTG CCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTG GGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCG TGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG GACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA

		GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 254	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 255	LCDR3 (KABAT)	HQWSNYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 256	LCDR3 (CHOTHIA)	WSNYPW
SEQ ID NO: 254	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 255	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSNYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 255	LCDR3 (IMGT)	HQWSNYPWT
SEQ ID NO: 257	VL	QIVLTQSPTIMSASLGEEITLTCSASSSVSYMH WYQQKSGTSPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSNYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 258	ДНК,	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAACAATC

	кодирующая VL	ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTTACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATGCACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCAAACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAATTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 259	LC	QIVLTQSPTIMSASLGEEITLTCSASSSVSYMH WYQQKSGTSPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSNYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 260	ДНК, кодирующая LC	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAACAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTTACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATGCACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCAAACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAATTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAACGTACGGTGG CCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG GACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG

		ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCA TAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Антитело MAB20 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 261	HCDR2 (KABAT)	DINPNYDITSYNQKFKG
SEQ ID NO: 262	HCDR3 (KABAT)	RGFFLYYGSSYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTDY
SEQ ID NO: 247	HCDR2 (CHOTHIA)	NPNYDI
SEQ ID NO: 262	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFLYYGSSYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO: 261	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPNYDITSYNQKFKG
SEQ ID NO: 262	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFLYYGSSYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 248	HCDR2 (IMGT)	INPNYDIT
SEQ ID NO: 263	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFLYYGSSYYYFDV
SEQ ID NO: 264	VH	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNYDITSYN QKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFLYYGSSYYYFDVWGAGTTVT VSS
SEQ ID NO: 265	ДНК, кодирующая VH	GAGGTCCAGCTGCAACAGTTTGGAGCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA

		CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAACTATGATATTACTAG CTACAACCAGAAGTTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAA GAGGGTTTTTTCTTTACTACGGTAGTAGCT ACTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 266	HC	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNYDITSYN QKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFLYYGSSYYYFDVWGAGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 267	ДНК, кодирующая HC	GAGGTCCAGCTGCAACAGTTTGGAGCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAACTATGATATTACTAG CTACAACCAGAAGTTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAA

		GAGGGTTTTTTCTTTACTACGGTAGTAGCT ACTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCA AGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCA GCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTG CCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTG GGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCG TGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG GACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGAT ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC

		ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 254	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (CHOTHIA)	WSSYPW
SEQ ID NO: 254	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 268	VL	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYMH WYQQKSGTSPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 269	ДНК, кодирующая VL	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATGCACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCAAACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG

		CACCAAGCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 270	LC	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYMH WYQQKSGTSPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 271	ДНК, кодирующая LC	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATGCACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCAAACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAACGTACGGTGG CCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG GACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCA TAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Антитело MAB21 к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 272	HCDR1 (KABAT)	EYTMH

SEQ ID NO: 273	HCDR2 (KABAT)	GINPNNGITTYNQKFKG
SEQ ID NO: 274	HCDR3 (KABAT)	RGFPIYYYGTSLYYFDY
SEQ ID NO: 275	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTEY
SEQ ID NO: 276	HCDR2 (CHOTHIA)	NPNNGI
SEQ ID NO: 274	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFPIYYYGTSLYYFDY
SEQ ID NO: 277	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTEYTMH
SEQ ID NO: 273	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	GINPNNGITTYNQKFKG
SEQ ID NO: 274	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFPIYYYGTSLYYFDY
SEQ ID NO: 278	HCDR1 (IMGT)	GYTFTEYT
SEQ ID NO: 279	HCDR2 (IMGT)	INPNNGIT
SEQ ID NO: 280	HCDR3 (IMGT)	ARRGFPIYYYGTSLYYFDY
SEQ ID NO: 281	VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFTE YTMHWVKQSHGKSLEWIGGINPNNGITTYN QKFKGKATLTVDKSSSTAYMDLRSLTSEGSA VYYCARRGFPIYYYGTSLYYFDYWGQGTTL TVSS
SEQ ID NO: 282	ДНК, кодирующая VH	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGACTTCTGGATACACATTCA CTGAATACACCATGCACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGGTATTAATCCTAACAATGGTATTACTAC TTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGACCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGGTTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAA GGGGATTCCCTATTTATTACTACGGTACTA GCCTCTACTACTTTGACTACTGGGGCCAAG

		GCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 283	HC	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFTE YTMHWVKQSHGKSLEWIGGINPNNGITTYN QKFKGKATLTVDKSSSTAYMDLRSLTSEGSA VYYCARRGFPIYYYGTSLYYFDYWGQGTTL TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 284	ДНК, кодирующая HC	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGACTTCTGGATACACATTCA CTGAATACACCATGCACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGGTATTAATCCTAACAATGGTATTACTAC TTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGACCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGGTTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAA GGGGATTCCCTATTTATTACTACGGTACTA GCCTCTACTACTTTGACTACTGGGGCCAAG GCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCTAGCA CCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCC CCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTG CTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACT TCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACT CTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT

		ACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCC TCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACAC CAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGA GCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCT GCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTT CCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGG ACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAG GTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAC GAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCA AGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACC GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAA AGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGG CCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATC AGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCC CCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTG ACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGC GATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGG CCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCC CCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGT CCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGC TGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAA CCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAG CCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 254	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 285	LCDR2 (KABAT)	TTSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 286	LCDR2 (CHOTHIA)	TTS

SEQ ID NO: 19	LCDR3 (CHOTHIA)	WSSYPW
SEQ ID NO: 254	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 285	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	TTSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 286	LCDR2 (IMGT)	TTS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 287	VL	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYMH WYQQRSGTSPKLLIYTTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 288	ДНК, кодирующая VL	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATGCACTGGTACCAGCAGAGGTCAGG CACTTCTCCCAAACTCTTGATTTATACCAC ATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCGTGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 289	LC	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYMH WYQQRSGTSPKLLIYTTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 290	ДНК,	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC

	кодирующая LC	ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATGCACTGGTACCAGCAGAGGTCAGG CACTTCTCCCAAACTCTTGATTTATACCAC ATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCGTGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAACGTACGGTGG CCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG GACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCA TAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
FAB22 антитела к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 37	HCDR1 (Kabat)	SGYYWN
SEQ ID NO: 220	HCDR2 (Kabat)	YISYDGDNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 221	HCDR3 (Kabat)	GYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 40	HCDR1 (Chothia)	GYSITSGY
SEQ ID NO: 222	HCDR2 (Chothia)	SYDGD
SEQ ID NO: 221	HCDR3 (Chothia)	GYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 42	HCDR1 (комбинация)	GYSITSGYYWN
SEQ ID NO: 220	HCDR2 (комбинация)	YISYDGDNNYNPSLKN

SEQ ID NO: 221	HCDR3 (комбинация)	GYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 43	HCDR1 (IMGT)	GYSITSGYY
SEQ ID NO: 223	HCDR2 (IMGT)	ISYDGDN
SEQ ID NO: 224	HCDR3 (IMGT)	AGGYYRYGLSYYYVMDY
SEQ ID NO: 328	VH	EVKLEQSGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSG YYWNWIRQFPGNKLEWMSYISYDGDNNYN PSLKNRISITRDTSKNQFFLKLSSVTTEDTATY YCAGGYYRYGLSYYYVMDYWGQGTSVTVS A
SEQ ID NO: 329	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGAAGCTGGAGCAGTCAGGACCTGG CCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTC ACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACC AGTGGTTATTACTGGAACTGGATCCGGCAG TTTCCAGGAAACAAACTGGAATGGATGAG CTACATAAGCTACGACGGTGACAATAACT ACAACCCATCTCTCAAAAATCGAATCTCCA TCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTT TCCTGAAGTTGAGTTCTGTGACTACTGAGG ACACAGCTACATATTACTGTGCAGGAGGCT ACTATAGGTACGGCCTGTCGTATTACTATG TTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAG TCACAGTCTCCGCA
SEQ ID NO: 330	HC	EVKLEQSGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSG YYWNWIRQFPGNKLEWMSYISYDGDNNYN PSLKNRISITRDTSKNQFFLKLSSVTTEDTATY YCAGGYYRYGLSYYYVMDYWGQGTSVTVS AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 331	ДНК, кодирующая HC	GAAGTGAAGCTGGAGCAGTCAGGACCTGG CCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTC ACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACC

		AGTGGTTATTACTGGAACTGGATCCGGCAG TTTCCAGGAAACAAACTGGAATGGATGAG CTACATAAGCTACGACGGTGACAATAACT ACAACCCATCTCTCAAAAATCGAATCTCCA TCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTT TCCTGAAGTTGAGTTCTGTGACTACTGAGG ACACAGCTACATATTACTGTGCAGGAGGCT ACTATAGGTACGGCCTGTCGTATTACTATG TTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAG TCACAGTCTCCGCAgctagcaccaagggcccaagtgtgt ttcccctggcccccagcagcaagtctacttccggcggaactgctgccc tgggttgcctggtgaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcct ggaactctggggctctgacttccggcgtgcacaccttccccgccgtgc tgcagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtgacagtgcc ctccagctctctgggaacccagacctatatctgcaacgtgaaccacaa gcccagcaacaccaaggtggacaagagagtggagcccaagagctg c
SEQ ID NO: 61	LCDR1 (Kabat)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (Kabat)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (Kabat)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 62	LCDR1 (Chothia)	SQSVDYDGNSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 55	LCDR3 (Chothia)	SNEDPP
SEQ ID NO: 61	LCDR1 (комбинация)	KASQSVDYDGNSYMN
SEQ ID NO: 51	LCDR2 (комбинация)	AASNLES
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (комбинация)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 63	LCDR1 (IMGT)	QSVDYDGNSY
SEQ ID NO: 54	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 52	LCDR3 (IMGT)	QQSNEDPPT
SEQ ID NO: 332	VL	DIKMTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDY DGNSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGI

		PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ QSNEDPPTFGGGTKLELK
SEQ ID NO: 333	ДНК, кодирующая VL	GATATTAAGATGACCCAATCTCCAGCCTCT TTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACC ATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGAT TATGATGGTAATAGTTATATGAACTGGTAC CAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACT CCTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATC TGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCA TCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCTC CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA CTCAAA
SEQ ID NO: 334	LC	DIKMTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDY DGNSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGI PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ QSNEDPPTFGGGTKLELKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C
SEQ ID NO: 335	ДНК, кодирующая LC	GATATTAAGATGACCCAATCTCCAGCCTCT TTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACC ATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGAT TATGATGGTAATAGTTATATGAACTGGTAC CAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACT CCTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATC TGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCA TCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCTC CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA CTCAAAcgtacggtggccgctcccagcgtgttcatcttcccccc agcgacgagcagctgaagagtggcaccgccagcgtggtgtgcctgc

		tgaacaacttctacccccgggaggccaaggtgcagtggaaggtgga caacgccctgcagagcggcaacagccaggagagcgtcaccgagca ggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctgaccctg agcaaggccgactacgagaagcataaggtgtacgcctgcgaggtga cccaccagggcctgtccagccccgtgaccaagagcttcaacagggg cgagtgc
FAB23 антитела к ENTPD2 человека		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (KABAT)	DYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (KABAT)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (KABAT)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTDY
SEQ ID NO: 5	HCDR2 (CHOTHIA)	NPKYDI
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (CHOTHIA)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 6	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	DINPKYDISTYNQQFKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	RGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GYTFTDYN
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	INPKYDIS
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	ARRGFFLYYGINYYYFDV
SEQ ID NO: 233	VH	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGAGTTVT VSS
SEQ ID NO: 234	ДНК, кодирующая VH	GAGGTCCAACTGCAACAGTTTGGAGCTGA ACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA

		TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAAGTATGATATTTCTAC CTACAATCAGCAATTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTATTGTGCAAGAA GAGGCTTTTTTCTTTACTACGGTATTAACTA CTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGAC CACGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 336	HC	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD YNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPKYDISTYN QQFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA VYYCARRGFFLYYGINYYYFDVWGAGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 337	ДНК, кодирующая HC	GAGGTCCAACTGCAACAGTTTGGAGCTGA ACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCA CTGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAG AGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG AGATATTAATCCTAAGTATGATATTTCTAC CTACAATCAGCAATTCAAGGGAAAGGCCA CATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTG AGGACACTGCAGTCTATTATTGTGCAAGAA GAGGCTTTTTTCTTTACTACGGTATTAACTA CTATTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGAC CACGGTCACCGTCTCCTCAgctagcaccaagggccc aagtgtgtttcccctggcccccagcagcaagtctacttccggcggaac tgctgccctgggttgcctggtgaaggactacttccccgagcccgtgac agtgtcctggaactctggggctctgacttccggcgtgcacaccttcccc

		gccgtgctgcagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtga cagtgccctccagctctctgggaacccagacctatatctgcaacgtga accacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagtggagccca agagctgc
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (KABAT)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (KABAT)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (KABAT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (CHOTHIA)	SSSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (CHOTHIA)	STS
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (CHOTHIA)	WSSYPW
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	SASSSVSYIH
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	STSNLAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	SSVSY
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	STS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	HQWSSYPWT
SEQ ID NO: 237	VL	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYIH WYQQKSGTSPTLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 238	ДНК, кодирующая VL	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATACACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCACACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAATCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA

		AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 239	LC	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVSYIH WYQQKSGTSPTLLIYSTSNLASGVPSRFSGSG SGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWT FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 240	ДНК, кодирующая LC	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATC ATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGATCACC CTAACCTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAGT TACATACACTGGTACCAGCAGAAGTCAGG CACTTCTCCCACACTCTTGATTTATAGCAC ATCCAATCTGGCTTCTGGAGTCCCTTCTCG CTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTA TTCTCTCACAATCAGCAGTGTGGAGGCTGA AGATGCTGCCGATTATTACTGCCATCAGTG GAGTAGTTATCCATGGACGTTCGGTGGAGG CACCAAGCTGGAAATCAAACGTACGGTGG CCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC CCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG GACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCA TAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC

В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела (например, антигенсвязывающий фрагмент) к ENTPD2 человека содержат VH-домен, имеющий аминокислотную последовательность любого VH-домена, описанного в таблице 1. Другие

подходящие антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) к ENTPD2 человека могут содержать аминокислоты, которые были подвергнуты мутации, но при этом они характеризуются по меньшей мере 80-, 85-, 90-, 95-, 96-, 97-, 98- или 99-процентной идентичностью в VH-домене с VH-областями, показанными в последовательностях, описанных в таблице 1. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении также предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 человека, где антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) содержат CDR VH, имеющую аминокислотную последовательность любой из CDR VH, перечисленных в таблице 1. В конкретных вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержащие одну, две, три, четыре, пять или больше CDR VH, имеющих аминокислотную последовательность любой из CDR VH, перечисленных в таблице 1 (или, в качестве альтернативы, состоящие из них).

В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела (например, антигенсвязывающий фрагмент) к ENTPD2 человека содержат VL-домен, имеющий аминокислотную последовательность любого VL-домена, описанного в таблице 1. Другие подходящие антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) к ENTPD2 человека могут содержать аминокислоты, которые были подвергнуты мутации, но при этом они характеризуются по меньшей мере 80-, 85-, 90-, 95-, 96-, 97-, 98- или 99-процентной идентичностью в VL-домене с VL-областями, показанными в последовательностях, описанных в таблице 1. В настоящем изобретении также предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 человека, при этом антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) содержат CDR VL, имеющую аминокислотную последовательность любой из CDR VL, перечисленных в таблице 1. В частности, в настоящем изобретении предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержащие одну, две, три или больше CDR VL, имеющих аминокислотную последовательность любой из CDR VL, перечисленных в таблице 1 (или, в качестве альтернативы, состоящие из них).

Другие антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающий фрагмент) к ENTPD2 человека, раскрытые в данном документе, содержат аминокислоты, которые были подвергнуты мутации, но при этом они характеризуются по меньшей мере 80-, 85-, 90-, 95-, 96-, 97-, 98- или 99-процентной идентичностью в CDR-областях с CDR-областями, показанными в последовательностях, описанных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления они содержат мутантные аминокислотные последовательности, в которых не более 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот были подвергнуты мутации в CDR-областях по сравнению с CDR-областями, показанными в последовательности, описанной

в таблице 1.

В данном документе также предусмотрены последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют VH, VL, полноразмерную тяжелую цепь и полноразмерную легкую цепь антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, например, последовательности нуклеиновых кислот из таблицы 1. Такие последовательности нуклеиновых кислот могут быть оптимизированы для экспрессии в клетках млекопитающих.

Другие антитела к ENTPD2 человека, раскрытые в данном документе, включают антитела, в которых аминокислоты или нуклеиновые кислоты, кодирующие аминокислоты, были подвергнуты мутации, но при этом они характеризуются по меньшей мере 80-, 85-, 90-, 95-, 96-, 97-, 98- или 99-процентной идентичностью с последовательностями, описанными в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат мутантные аминокислотные последовательности, где не более 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот были подвергнуты мутации в вариабельных областях по сравнению с вариабельными областями, показанными в последовательности, описанной в таблице 1, при этом они сохраняют по существу такую же терапевтическую активность.

Поскольку каждое предусмотренное антитело связывается с ENTPD2 человека, последовательности (аминокислотные последовательности и нуклеотидные последовательности, кодирующие аминокислотные последовательности) VH, VL, полноразмерной легкой цепи и полноразмерной тяжелой цепи можно подвергать "смешиванию и подбору" для создания других ENTPD2-связывающих антител, раскрытых в данном документе. Такие подвергнутые "смешиванию и подбору" ENTPD2-связывающие антитела можно тестировать с помощью анализов связывания, известных из уровня техники (например, разновидностей ELISA, анализов, описанных в иллюстративных примерах). В случае, когда цепи подвергают смешиванию и подбору, последовательность VH из конкретной пары VH/VL следует заменить структурно сходной последовательностью VH. Последовательность полноразмерной тяжелой цепи из конкретной пары полноразмерная тяжелая цепь/полноразмерная легкая цепь следует заменить структурно сходной последовательностью полноразмерной тяжелой цепи. Последовательность VL из конкретной пары VH/VL следует заменить структурно сходной последовательностью VL. Последовательность полноразмерной легкой цепи из конкретной пары полноразмерная тяжелая цепь/полноразмерная легкая цепь следует заменить структурно сходной последовательностью полноразмерной легкой цепи.

Соответственно, в одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрены выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, имеющие вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NOs: 10, 25, 33, 46, 70, 91, 115, 132, 145, 169, 225, 233, 241, 250, 264, 281, 328; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из

SEQ ID NOs: 21, 29, 57, 64, 74, 78, 102, 125, 156, 178, 229, 237, 257, 268, 287, 332; где антитело специфично связывается с ENTPD2 человека.

В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрены (i) выделенное моноклональное антитело, имеющее полноразмерную тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NOs: 12, 27, 35, 48, 72, 93, 117, 134, 147, 171, 227, 235, 243, 252, 266, 283, 330; и полноразмерную легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NOs: 23, 31, 59, 66, 76, 80, 104, 127, 158, 180, 231, 239, 259, 270, 289, 334; или (ii) функциональный белок, содержащий его антигенсвязывающую часть.

В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрены антитела, связывающиеся с ENTPD2 человека, или их фрагменты антител, которые содержат CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, описанные в таблице 1, или их комбинации. Аминокислотные последовательности CDR1 VH антител показаны под SEQ ID NOs: 1, 4, 6, 7, 37, 40, 42, 43, 82, 85, 87, 88, 106, 109, 111, 112, 136, 139, 141, 142, 160, 163, 165, 166, 185, 187, 188, 206, 207, 208, 213, 214, 215, 272, 275, 277. Аминокислотные последовательности CDR2 VH антител показаны под SEQ ID NOs: 2, 5, 8, 38, 41, 44, 83, 86, 89, 107, 110, 113, 129, 130, 131, 137, 140, 143, 161, 164, 167, 186, 189, 220, 222, 223, 245, 247, 248, 261, 273, 276, 279. Аминокислотные последовательности CDR3 VH антител показаны под SEQ ID NO: 3, 39, 68, 84, 108, 138, 162, 221, 246, 262, 277, 274, 9, 45, 69, 90, 114, 144, 168, 190, 224, 249, 263, 274, 280. Аминокислотные последовательности CDR1 VL антител показаны под SEQ ID NOs: 14, 17, 20, 50, 53, 56, 61, 62, 63, 95, 98, 101, 119, 122, 124, 149, 152, 155, 173, 175, 177, 198, 201, 254. Аминокислотные последовательности CDR2 VL антител показаны под SEQ ID NOs: 15, 18, 51, 54, 96, 99, 120, 150, 153, 199, 285, 286. Аминокислотные последовательности CDR3 VL антител показаны под SEQ ID NOs: 16, 19, 52, 55, 97, 100, 121, 123, 151, 154, 174, 176, 200, 255, 256.

С учетом того, что каждое из антител связывается с ENTPD2 человека и что специфичность связывания с антигеном обеспечивается преимущественно CDR1-, CDR2- и CDR3-областями, последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL можно подвергнуть "смешиванию и подбору" (т. е. CDR из различных антител можно подвергнуть смешиванию и подбору), при том что каждое антитело должно содержать CDR1, CDR2 и CDR3 VH и CDR1, CDR2 и CDR3 VL, для создания других антител, связывающихся с ENTPD2 человека, раскрытых в данном документе. Такие "подвергнутые смешиванию и подбору" ENTPD2-связывающие антитела можно тестировать с помощью анализов связывания, известных из уровня техники и описанных в разделе "Примеры" (например, разновидностей ELISA). В случае, когда последовательности CDR VH подвергают смешиванию и подбору, последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 из конкретной последовательности VH следует заменить структурно сходной(сходными)

последовательностью(последовательностями) CDR. Аналогичным образом, в случае, когда последовательности CDR VL подвергают смешиванию и подбору, последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 из конкретной последовательности VL следует заменить структурно сходной(сходными) последовательностью(последовательностями) CDR. Специалисту обычной квалификации в данной области будет совершенно очевидно, что новые последовательности VH и VL можно создавать путем замены одной или нескольких последовательностей CDR-областей VH и/или VL структурно сходными последовательностями из последовательностей CDR, показанных в данном документе для моноклональных антител по настоящему изобретению.

Соответственно, в настоящем изобретении предусмотрены выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающая область, содержащие CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 1, 4, 6, 7, 37, 40, 42, 43, 82, 85, 87, 88, 106, 109, 111, 112, 136, 139, 141, 142, 160, 163, 165, 166, 182, 187, 188, 206, 207, 208, 213, 214, 215, 272, 275, 277; CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 2, 5, 8, 38, 41, 44, 83, 86, 89, 107, 110, 113, 129, 130, 131, 137, 140, 143, 161, 164, 167, 183, 189, 220, 222, 223, 245, 247, 248, 261, 273, 276; CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 39, 68, 84, 108, 138, 162, 221, 246, 262, 277, 274, 9, 45, 69, 90, 114, 144, 168, 190, 224, 249, 263, 274, 280; CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 14, 17, 20, 50, 53, 56, 61, 62, 63, 95, 98, 101, 119, 122, 124, 149, 152, 155, 173, 175, 177, 195, 201, 254; CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 15, 18, 51, 54, 96, 99, 120, 150, 153, 196, 285, 286; и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 16, 19, 52, 55, 97, 100, 121, 123, 151, 154, 174, 176, 197, 255, 256; где антитело специфично связывается с ENTPD2 человека.

В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, представляет собой антитело или фрагмент антитела (например, антигенсвязывающий фрагмент), которые описаны в таблице 1.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат область 1, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR1), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, 4, 6 или 7; область 2, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR2), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, 5 или 8; область 3, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR3), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3 или 9; область 1, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR1), содержащую аминокислотную

последовательность под SEQ ID NO: 14, 17 или 20; область 2, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR2), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15 или 18; и область 3, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR3), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16 или 19.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 14; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 14; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 9; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37, 40, 42 или 43;

HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38, 41 или 44; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39 или 45; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50, 53 или 56; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51 или 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52 или 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 40; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 41; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 53; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 42; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 43; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 44; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 45; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 56; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37, 40, 42 или 43;

HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38, 41 или 44; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39 или 45; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61, 62 или 63; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51 или 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52 или 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 40; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 41; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 42; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 39; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 43; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 44; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 45; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 63; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37, 40, 42 или 43;

HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38, 41 или 44; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68 или 69; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50, 53 или 56; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51 или 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52 или 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 40; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 41; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 53; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 42; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 38; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 43; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 44; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 69; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 56; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 82, 85, 87 или 88;

HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 83, 86 или 89; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 84 или 90; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 95, 98 или 101; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 96 или 99; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 97 или 100.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 82; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 83; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 84; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 95; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 96; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 97.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 85; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 86; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 84; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 98; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 100.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 87; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 83; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 84; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 95; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 96; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 97.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 88; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 89; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 90; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 101; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 97.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 106, 109, 111 или 112; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 107, 110 или 113; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108 или 114; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 119, 122 или 124; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99 или 120; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121 или 123.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 106; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 107; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 119; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 120; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 109; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 110; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 122; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 123.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 111; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 107; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 119; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 120; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 112; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 113; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 114; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 124; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая

область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 106, 109, 111 или 112; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 129, 130 или 131; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108 или 114; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 119, 122 или 124; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99 или 120; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121 или 123.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 106; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 129; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 119; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 120; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 109; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 130; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 122; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 123.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 111; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 129; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 108; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 119; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 120; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 112; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 131; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 114; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 124; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 99; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 121.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 136, 139, 141 или 142; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 137, 140 или 143; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 138 или 144; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 149, 152 или 155; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 150 или 153; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 151 или 154.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 136; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 137; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 138; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 149; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 150; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 151.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 139; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 140; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 138; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 152; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 153; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 154.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 141; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 137; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 138; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 149; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 150; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 151.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 142; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 143; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 144; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 155; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 153; и LCDR3,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 151.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 160, 163, 165 или 166; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 161, 164 или 167; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 162 или 168; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 173, 175 или 177; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 150 или 153; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 174 или 176.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 160; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 161; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 162; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 173; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 150; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 174.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 163; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 164; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 162; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 175; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 153; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 176.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 165; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 161; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 162; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 173; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 150; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 174.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 166; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 167; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 168; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 177; LCDR2,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 153; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 174.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37, 40, 42 или 43; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 220, 222 или 223; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 221 или 224; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61, 62 или 63; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51 или 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52 или 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 220; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 221; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 40; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 222; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 221; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 42; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 220; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 221; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 43; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 223; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 224; LCDR1,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 63; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37, 40, 42 или 43; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 220, 222 или 223; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68 или 69; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61, 62 или 63; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51 или 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52 или 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 37; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 220; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 40; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 222; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 42; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 220; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 68; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 43; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 223; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 69; LCDR1,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 63; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, 4, 6 или 7; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 245, 247 или 248; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 246 или 249; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17, 20 или 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15 или 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 255 или 256.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 245; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 246; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 247; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 246; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 256.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 254; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 246; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 248; HCDR3,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 249; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, 4, 6 или 7; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 247, 248 или 261; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 262 или 263; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17, 20 или 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15 или 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16 или 19.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 261; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 262; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 247; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 262; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 261; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 262; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7; HCDR2,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 248; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 263; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 272, 275 или 278; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 273, 276 или 279; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 274, 277 или 280; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17, 20 или 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 285 или 286; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16 или 19.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 272; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 273; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 274; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 285; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 275; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 276; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 274; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 286; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 277; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 273; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 274; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 254; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 285; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат HCDR1,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 278; HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 279; HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 280; LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20; LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 286; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 25 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 29 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 33 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 29 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 46 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 57 (или последовательность, на по

меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 46 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 64 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 70 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 74 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 25 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 78 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 91 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную

область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 115 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 125 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 132 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 125 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 145 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 156 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 169 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 178 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 225 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую

аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 229 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 237 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 241 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 229 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 250 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 257 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 264 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 268 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая

область, которые специфично связываются с ENTPD2 человека, содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 281 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 287 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 12 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 31 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 35 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 31 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 48 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 59 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 48 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 66 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 72 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 76 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 80 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 93 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 104 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 117 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 127 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 134 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 127 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 147 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 158 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 171 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 180 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 227 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 231 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 235 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 239 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 243 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 231 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 252 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 259 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 266 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 270 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфично связывается с ENTPD2 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 283 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 289 (или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замены, вставки, делеции или модификации).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрены антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее 10 нМ, например, с K_D, составляющей менее 9 нМ, менее 8 нМ, менее 7 нМ, менее 6 нМ, менее 5 нМ, менее 4 нМ, менее 3 нМ, менее 2 нМ, менее 1 нМ, например, согласно измерению с помощью Biacore. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, предусмотренные в данном документе, связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее 5 нМ, например, согласно измерению

с помощью Biacore. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, предусмотренные в данном документе, связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее 3 нМ, например, согласно измерению с помощью Biacore. В некоторых вариантах осуществления антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, предусмотренные в данном документе, связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее 1 нМ, например, согласно измерению с помощью Biacore. В некоторых вариантах осуществления константу диссоциации антител или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном документе, для ENTPD2 человека измеряют с помощью Biacore при 25°C.

В данном документе также предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять, по меньшей мере одиннадцать, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере тринадцать, по меньшей мере четырнадцать, по меньшей мере пятнадцать, по меньшей мере двадцать) из следующих остатков: His50, Asp76, Pro78, Gly79, Gly80, Tyr85, Asp87, Asn88, Gly91, Gln94, Ser95, Gly98, Glu101, Gln102, Gln105, Asp106, Arg245, Thr272, Gln273, Leu275, Asp278, Arg298, Ala347, Ala350, Thr351, Arg392, Ala393, Arg394 или Tyr398. В некоторых вариантах осуществления такие антитела или антигенсвязывающие фрагменты включают без ограничения MAb1, MAb2, MAb3, MAb7, MAb17, MAb19, MAb20, MAb21 и Fab23, раскрытые в таблице 1.

В данном документе также предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять, по меньшей мере одиннадцать, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере тринадцать, по меньшей мере четырнадцать, по меньшей мере пятнадцать, по меньшей мере двадцать) из следующих остатков: Gly79, Gln250, Leu253, Trp266, Arg268, Gly269, Phe270, Ser271, Thr272, Gln273, Val274, Leu275, Asp278, Arg298, Ser300, Ser302, Gly303, Thr380, Trp381, Ala382, Gly390, Gln391, Arg392, Ala393, Arg394 или Asp397. В некоторых вариантах осуществления такие антитела или антигенсвязывающие фрагменты включают без ограничения MAb4, MAb5, MAb6, MAb16, MAb18 и Fab22, раскрытые в таблице 1.

После определения необходимого эпитопа в антигене можно создавать антитела к этому эпитопу, например, с помощью методик, описанных в настоящем изобретении. В качестве альтернативы в ходе процесса разработки при создании антител и определения их характеристик может выясняться информация о необходимых эпитопах. На основании этой информации можно затем провести конкурентный скрининг антител в отношении

связывания с одним и тем же эпитопом. Подход к достижению этого заключается в проведении исследований перекрестной конкуренции с целью обнаружения антител, которые конкурентно связываются друг с другом, например, антител, конкурирующих за связывание с антигеном. Высокопроизводительный способ "сортировки" антител на основании их перекрестной конкуренции описан в международной заявке на патент № WO 2003/48731. Как будет понятно специалисту в данной области, практически все, с чем может специфично связываться антитело, может представлять собой эпитоп. Эпитоп может содержать те остатки, с которыми связывается антитело.

В целом, антитела, специфичные в отношении конкретного антигена-мишени, будут преимущественно распознавать эпитоп в антигене-мишени в сложной смеси белков и/или макромолекул.

Области данного полипептида, которые содержат эпитоп, могут быть идентифицированы с помощью множества методик картирования эпитопов, хорошо известных из уровня техники. См., например, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996, Humana Press, Totowa, N.J). Например, линейные эпитопы могут быть определены, например, посредством параллельного синтеза большого количества пептидов на твердых подложках, при этом пептиды соответствуют частям молекулы белка, и осуществления реакции пептидов с антителами, когда пептиды все еще прикреплены к подложкам. Такие методики известны из уровня техники и описаны, например, в патенте США. № 4708871; Geysen et al., (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8:3998-4002; Geysen et al., (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen et al., (1986) Mol. Immunol. 23:709-715. Аналогичным образом, конформационные эпитопы без труда идентифицируют путем определения пространственной конформации аминокислот, как, например, с помощью рентгеновской кристаллографии и двумерного ядерного магнитного резонанса. См., например, Epitope Mapping Protocols выше. Антигенные области белков также могут быть идентифицированы с помощью стандартных графиков антигенности и гидропатичности, таких как графики, построенные с помощью, например, программы из системы программного обеспечения Omiga версии 1.0, доступной от Oxford Molecular Group. В этой компьютерной программе используются способ Хоппа-Вудса, Hopp et al., (1981) Proc. Natl. Acad. Sci USA 78:3824-3828; для определения профилей антигенности и методика Кайта-Дулиттла, Kyte et al., (1982) J. Mol. Biol. 157:105-132; для построения графиков гидропатичности.

Молекула антитела может представлять собой поликлональное или моноклональное антитело. Моноклональное антитело может быть получено с помощью гибридомной технологии или с помощью способов, в которых не используется гибридомная технология (например, рекомбинантных способов). В некоторых вариантах осуществления антитело может быть получено рекомбинантным путем, например, может быть получено с помощью фагового дисплея или с помощью комбинаторных способов.

Фаговый дисплей и комбинаторные способы для создания антител известны из

уровня техники (как описано, например, в Ladner et al., патент США № 5223409; Kang et al., международная публикация № WO 92/18619; Dower et al., международная публикация № WO 91/17271; Winter et al., международная публикация WO 92/20791; Markland et al., международная публикация № WO 92/15679; Breitling et al., международная публикация WO 93/01288; McCafferty et al., международная публикация № WO 92/01047; Garrard et al., международная публикация № WO 92/09690; Ladner et al., международная публикация № WO 90/02809; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum Antibod Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; Griffiths et al. (1993) EMBO J 12:725-734; Hawkins et al. (1992) J Mol Biol 226:889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628; Gram et al. (1992) PNAS 89:3576-3580; Garrard et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137 и Barbas et al. (1991) PNAS 88:7978-7982).

В одном варианте осуществления антитело представляет собой полностью человеческое антитело (например, антитело, полученное в организме мыши, которая была модифицирована методами генной инженерии для продуцирования антитела из последовательности человеческого иммуноглобулина) или антитело, не являющееся человеческим, например, антитело грызуна (мыши или крысы), козы, примата (например, обезьяны), верблюда.

Антитело может представлять собой антитело, в котором вариабельная область или ее часть, например, CDR, получены в организме, отличном от человеческого, например, в организме крысы или мыши. Химерные антитела, антитела с привитыми CDR и гуманизированные антитела находятся в пределах объема настоящего изобретения. Антитела, полученные в организме, отличном от человеческого, например, в организме крысы или мыши, и затем подвергнутые модификации, например, в каркасной части вариабельной области или константной области, для уменьшения антигенности у человека, находятся в пределах объема настоящего изобретения.

Химерные и/или гуманизированные антитела могут быть сконструированы для минимизации иммунного ответа пациента-человека на антитела, продуцируемые у субъектов, отличных от человека, или полученные в результате экспрессии генов, кодирующих антитела, отличные от человеческих. Химерные антитела содержат вариабельную область антитела животного, отличного от человека, и константную область человеческого антитела. Такие антитела сохраняют специфичность связывания с эпитопом исходного моноклонального антитела, но могут быть менее иммуногенными при введении людям и, следовательно, с большей вероятностью будут переносимыми для пациента. Например, каждая из одной или всех (например, одной, двух или трех) вариабельных областей легкой(легких) цепи(цепей) и/или одной или всех (например, одной, двух или трех) вариабельных областей тяжелой(тяжелых) цепи(цепей) антитела мыши (например, моноклонального антитела мыши) могут быть соединены с человеческой константной областью, такой как без ограничения человеческая константная область IgG1. Химерные моноклональные антитела могут быть получены с помощью

методик рекомбинантных ДНК, известных из уровня техники. Например, ген, кодирующий константную область молекулы антитела, отличного от человеческого, может быть заменен геном, кодирующим человеческую константную область (см. Robinson et al., PCT-публикация заявки на патент PCT/US86/02269; Akira, et al., заявка на европейский патент 184187; или Taniguchi, M., заявка на европейский патент 171496). Кроме того, другие подходящие методики, которые можно применять для получения химерных антител, описаны, например, в патентах США №№ 4816567; 4,978,775; 4975369 и 4816397.

Химерное антитело может быть дополнительно "гуманизировано" путем замены частей вариабельной области, не участвующих в связывании с антигеном, эквивалентными частями из человеческих вариабельных областей. Гуманизированные антитела содержат в вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи одну или несколько человеческих каркасных областей вместе с областями, определяющими комплементарность (CDR), отличными от человеческих (например, из мыши, крысы или хомяка). В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит последовательности, являющиеся полностью человеческими, за исключением CDR-областей. Гуманизированные антитела, как правило, являются менее иммуногенными для людей по сравнению с негуманизированными антителами и, таким образом, обеспечивают благоприятные терапевтические эффекты в определенных ситуациях. Гуманизированные антитела к ENTPD2 могут быть получены с помощью способов, известных из уровня техники. См., например, Hwang et al., Methods 36:35, 2005; Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10029-10033, 1989; Jones et al., Nature 321:522-25, 1986; Riechmann et al., Nature 332:323-27, 1988; Verhoeyen et al., Science 239:1534-36, 1988; Orlandi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:3833-3837, 1989; патенты США №№ 5225539; 5530101; 5585089; 5693761; 5693762 и 6180370; а также WO 90/07861.

Человеческие антитела к ENTPD2 могут быть получены с помощью способов, известных из уровня техники. Например, технологию "гуманиринга" применяют для превращения антител, отличных от человеческих, в сконструированные человеческие антитела. В публикации заявки на патент США № 20050008625 описан осуществляемый in vivo способ замены вариабельной области антитела, отличного от человеческого, человеческой вариабельной областью в антителе с сохранением тех же или обеспечением лучших характеристик связывания по сравнению с таковыми у антитела, отличного от человеческого. Способ основывается на определяемой эпитопом замене вариабельных областей эталонного антитела, отличного от человеческого, таковыми из полностью человеческого антитела. Полученное в результате человеческое антитело в целом является структурно неродственным эталонному антителу, отличному от человеческого, но связывается с тем же эпитопом в том же антигене, что и эталонное антитело. Вкратце, подход с последовательной определяемой эпитопом комплементарной заменой обеспечивается благодаря созданию в клетках конкуренции между "конкурентом" и библиотекой разнообразных гибридных форм эталонного антитела ("тестируемых

антител") за связывание с антигеном, находящимся в ограниченных количествах, в присутствии репортерной системы, которая реагирует на связывание тестируемого антитела с антигеном. Конкурентом может быть эталонное антитело или его производное, такое как одноцепочечный Fv-фрагмент. Конкурентом также может быть природный или искусственный лиганд антигена, который связывается с тем же эпитопом, что и эталонное антитело. Единственные требования к конкуренту заключаются в том, чтобы он связывался с тем же эпитопом, что и эталонное антитело, и чтобы он конкурировал с эталонным антителом за связывание с антигеном. Тестируемые антитела имеют одну общую антигенсвязывающую V-область из эталонного антитела, отличного от человеческого, и другую V-область, отобранную случайным образом из иного источника, такого как репертуарная библиотека человеческих антител. Общая V-область из эталонного антитела служит в качестве указателя, располагая тестируемые антитела на одном и том же эпитопе в антигене и в одной и той же ориентации для того, чтобы отбор склонялся в сторону наиболее высокого качества связывания с антигеном относительно эталонного антитела.

Много типов репортерных систем можно применять для выявления необходимых взаимодействий между тестируемыми антителами и антигеном. Например, дополняющие друг друга репортерные фрагменты могут быть связаны соответственно с антигеном и тестируемым антителом для того, чтобы активация репортера при дополнении фрагментов происходила только тогда, когда тестируемое антитело связывается с антигеном. Если продукты слияния антитело-репортерный фрагмент и антиген-репортерный фрагмент экспрессируются совместно с конкурентом, то активация репортера становится зависимой от способности тестируемого антитела конкурировать с конкурентом, которая является пропорциональной аффинности тестируемого антитела в отношении антигена. Другие репортерные системы, которые можно применять, включают реактиватор самоингибируемой системы реактивации репортера (RAIR), раскрытый в заявке на патент США с регистрационным № 10/208730 (публикация № 20030198971), или систему конкурентной активации, раскрытую в заявке на патент США с регистрационным № 10/076845 (публикация № 20030157579).

При использовании системы последовательной определяемой эпитопом комплементарной замены проводят отбор для идентификации клеток, экспрессирующих одно тестируемое антитело вместе с конкурентом, антигеном и компонентами репортера. В этих клетках каждое тестируемое антитело конкурирует индивидуально с конкурентом за связывание с антигеном, находящимся в ограниченном количестве. Активность репортера является пропорциональной количеству антигена, связавшегося с тестируемым антителом, которое, в свою очередь, является пропорциональным аффинности тестируемого антитела в отношении антигена и стабильности тестируемого антитела. Тестируемые антитела изначально отбирают на основании их активности по сравнению с активностью эталонного антитела при экспрессии в качестве тестируемого антитела. Результатом первого цикла отбора является набор "гибридных" антител, каждое из

которых состоит из одной и той же V-области, отличной от человеческой, из эталонного антитела и человеческой V-области из библиотеки, и каждое из которых связывается с тем же эпитопом в антигене, что и эталонное антитело. Одно или несколько гибридных антител, отобранных в первом цикле, будут характеризоваться аффинностью в отношении антигена, сравнимой с таковой у эталонного антитела или превышающей ее.

На второй стадии замены V-области человеческие V-области, отобранные на первой стадии, используют в качестве указателя для отбора человеческих заменяющих фрагментов для остальной части V-области эталонного антитела, отличного от человеческого, с использованием разнообразной библиотеки когнатных человеческих V-областей. Гибридные антитела, отобранные в первом цикле, также можно применять в качестве конкурентов для второго цикла отбора. Результатом второго цикла отбора является набор полностью человеческих антител, которые структурно отличаются от эталонного антитела, но которые конкурируют с эталонным антителом за связывание с одним и тем же антигеном. Некоторые из отобранных человеческих антител связываются с тем же эпитопом в том же антигене, что и эталонное антитело. Среди этих отобранных человеческих антител одно или несколько связываются с одним и тем же эпитопом с аффинностью, которая является сравнимой с таковой у эталонного антитела или превышает ее.

При использовании мышиного или химерного антитела к ENTPD2 можно получить человеческие антитела, которые связываются с ENTPD2 человека с такой же специфичностью связывания и такой же или лучшей аффинностью связывания. Кроме того, такие человеческие антитела к ENTPD2 также могут быть получены коммерческим путем от компаний, которые обычно производят человеческие антитела, например, KaloBios, Inc. (Маунтин-Вью, Калифорния).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрены антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с белком ENTPD2 человека и модулируют одну или несколько форм активности/функций ENTPD2, например, ингибируют формы ферментативной активности ENTPD2 человека, например, на по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90%. В некоторых вариантах осуществления ферментативную активность ENTPD2 человека измеряют с помощью анализа FRET in vitro, в котором измеряется гидролиз ATP до ADP под действием рекомбинантного ENTPD2 либо ENTPD2, экспрессирующегося на поверхности клеток.

В некоторых вариантах осуществления антитела к ENTPD2 человека или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, ингибируют способность ENTPD2 к гидролизу аденозинтрифосфата (ATP). В некоторых вариантах осуществления способность ENTPD2 к гидролизу ATP измеряют с помощью анализа FRET in vitro, в котором измеряется гидролиз ATP до ADP под действием рекомбинантного ENTPD2 либо ENTPD2, экспрессирующегося на поверхности клеток.

В некоторых вариантах осуществления антитела к ENTPD2 человека или их

антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, препятствуют связыванию ATP с ENTPD2 или удерживают ATP в каталитическом домене ENTPD2. В некоторых вариантах осуществления препятствование связыванию ATP с ENTPD2 или удерживание ATP в каталитическом домене ENTPD2 измеряют с помощью анализа FRET in vitro, в котором измеряется гидролиз ATP до ADP под действием рекомбинантного ENTPD2 либо ENTPD2, экспрессирующегося на поверхности клеток.

Антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с ENTPD2 мыши

В данном документе также предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, например, моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с белком ENTPD2 мыши. В таблице 26 перечислены последовательности иллюстративных антител к ENTPD2 или их антигенсвязывающих фрагментов, которые специфично связываются с белком ENTPD2 мыши.

Таблица 26. Последовательности иллюстративных моноклональных антител (MAB) и фрагментов антител (FAB), которые связываются с ENTPD2 мыши

Антитело MAB13 к ENTPD2 мыши		
SEQ ID NO: 182	HCDR1 (KABAT)	HYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (KABAT)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (KABAT)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 185	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTHY
SEQ ID NO: 186	HCDR2 (CHOTHIA)	NTDTGN
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (CHOTHIA)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 187	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTHYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 188	HCDR1 (IMGT)	GYTFTHYG
SEQ ID NO: 189	HCDR2 (IMGT)	INTDTGNP
SEQ ID NO: 190	HCDR3 (IMGT)	VRYGTLYSGYGFFFDS

SEQ ID NO: 191	VH	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFTH YGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNPT YADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNED TATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO: 192	ДНК, кодирующая VH	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCA CACACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 193	HC	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFTH YGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNPT YADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNED TATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCL VKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSV FIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDV QISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIER TISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 194	ДНК, кодирующая HC	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA

		TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCA CACACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCAGCCAAGACCACCGCCC CCAGCGTGTACCCCCTGGCCCCCGTGTGCG GCGATACCACCGGCAGCAGCGTGACCCTG GGCTGCCTGGTGAAGGGCTACTTCCCCGAG CCCGTGACCCTGACCTGGAACAGCGGCTCC CTGAGCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCC GTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGTCC AGCTCCGTGACCGTGACAAGCAGCACCTG GCCCAGCCAGAGCATCACCTGCAACGTGG CCCACCCCGCCAGCAGCACCAAGGTGGAC AAGAAGATCGAGCCCAGGGGCCCCACCAT CAAGCCCTGCCCCCCCTGCAAGTGCCCAGC CCCCAACCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTT CATCTTCCCCCCCAAGATCAAGGACGTGCT GATGATCAGCCTGAGCCCCATCGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGAGCGAGGACGACC CCGACGTGCAGATCAGCTGGTTCGTGAACA ACGTGGAGGTGCACACCGCCCAGACCCAG ACCCACCGGGAGGACTACAACAGCACCCT GCGCGTCGTGTCCGCCCTGCCCATCCAGCA CCAGGACTGGATGAGCGGCAAAGAATTCA AGTGCAAGGTGAACAACAAGGACCTGCCT GCCCCCATCGAGCGGACCATCAGCAAGCC CAAGGGCAGCGTGAGAGCCCCCCAGGTGT ACGTGCTGCCCCCTCCCGAGGAAGAGATG

		ACCAAGAAACAGGTGACACTGACCTGCAT GGTGACCGACTTCATGCCCGAGGACATCTA CGTGGAGTGGACCAACAACGGCAAGACCG AGCTGAACTACAAGAACACCGAGCCTGTG CTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATGTAC AGCAAGCTGCGGGTGGAGAAGAAAAACTG GGTGGAGCGGAACAGCTACAGCTGCAGCG TGGTGCACGAGGGCCTGCACAACCACCAC ACCACCAAGAGCTTCAGCCGGACCCCCGG CAAG
SEQ ID NO: 195	LCDR1 (KABAT)	KSSQSLFNSNTNKNYLN
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (KABAT)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (KABAT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 198	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSLFNSNTNKNY
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (CHOTHIA)	YAS
SEQ ID NO: 200	LCDR3 (CHOTHIA)	WYSYPW
SEQ ID NO: 195	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KSSQSLFNSNTNKNYLN
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 201	LCDR1 (IMGT)	QSLFNSNTNKNY
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (IMGT)	YAS
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (IMGT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 202	VL	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIK
SEQ ID NO: 203	ДНК, кодирующая VL	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC

		TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 204	LC	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRN EC
SEQ ID NO: 205	ДНК, кодирующая LC	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAACGCGCTGATGCCGCCC CTACCGTGAGCATCTTCCCCCCCAGCAGCG AGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCCAGCGTG GTGTGCTTCCTGAACAACTTCTACCCCAAG GACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGG CAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAACA

		GCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCATGAGCAGCACCCTGACCCTG ACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAG CTACACCTGCGAGGCCACCCACAAGACCA GCACCAGCCCCATCGTGAAGAGCTTCAACC GGAACGAGTGC
Антитело MAB14 к ENTPD2 мыши		
SEQ ID NO: 182	HCDR1 (KABAT)	HYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (KABAT)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (KABAT)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 206	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFWHY
SEQ ID NO: 186	HCDR2 (CHOTHIA)	NTDTGN
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (CHOTHIA)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 207	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFWHYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 208	HCDR1 (IMGT)	GYTFWHYG
SEQ ID NO: 189	HCDR2 (IMGT)	INTDTGNP
SEQ ID NO: 190	HCDR3 (IMGT)	VRYGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 209	VH	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFW HYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNP TYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNE DTATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLV TVSS
SEQ ID NO: 210	ДНК, кодирующая VH	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA

		TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCT GGCACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 211	HC	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFW HYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNP TYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNE DTATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVT LTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 212	ДНК, кодирующая HC	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCT GGCACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG

		AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCAGCCAAGACCACCGCCC CCAGCGTGTACCCCCTGGCCCCCGTGTGCG GCGATACCACCGGCAGCAGCGTGACCCTG GGCTGCCTGGTGAAGGGCTACTTCCCCGAG CCCGTGACCCTGACCTGGAACAGCGGCTCC CTGAGCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCC GTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGTCC AGCTCCGTGACCGTGACAAGCAGCACCTG GCCCAGCCAGAGCATCACCTGCAACGTGG CCCACCCCGCCAGCAGCACCAAGGTGGAC AAGAAGATCGAGCCCAGGGGCCCCACCAT CAAGCCCTGCCCCCCCTGCAAGTGCCCAGC CCCCAACCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTT CATCTTCCCCCCCAAGATCAAGGACGTGCT GATGATCAGCCTGAGCCCCATCGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGAGCGAGGACGACC CCGACGTGCAGATCAGCTGGTTCGTGAACA ACGTGGAGGTGCACACCGCCCAGACCCAG ACCCACCGGGAGGACTACAACAGCACCCT GCGCGTCGTGTCCGCCCTGCCCATCCAGCA CCAGGACTGGATGAGCGGCAAAGAATTCA AGTGCAAGGTGAACAACAAGGACCTGCCT GCCCCCATCGAGCGGACCATCAGCAAGCC CAAGGGCAGCGTGAGAGCCCCCCAGGTGT ACGTGCTGCCCCCTCCCGAGGAAGAGATG ACCAAGAAACAGGTGACACTGACCTGCAT GGTGACCGACTTCATGCCCGAGGACATCTA CGTGGAGTGGACCAACAACGGCAAGACCG AGCTGAACTACAAGAACACCGAGCCTGTG CTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATGTAC AGCAAGCTGCGGGTGGAGAAGAAAAACTG GGTGGAGCGGAACAGCTACAGCTGCAGCG

		TGGTGCACGAGGGCCTGCACAACCACCAC ACCACCAAGAGCTTCAGCCGGACCCCCGG CAAG
SEQ ID NO: 195	LCDR1 (KABAT)	KSSQSLFNSNTNKNYLN
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (KABAT)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (KABAT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 198	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSLFNSNTNKNY
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (CHOTHIA)	YAS
SEQ ID NO: 200	LCDR3 (CHOTHIA)	WYSYPW
SEQ ID NO: 195	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KSSQSLFNSNTNKNYLN
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 201	LCDR1 (IMGT)	QSLFNSNTNKNY
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (IMGT)	YAS
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (IMGT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 202	VL	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIK
SEQ ID NO: 203	ДНК, кодирующая VL	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT

		GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 204	LC	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRN EC
SEQ ID NO: 205	ДНК, кодирующая LC	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAACGCGCTGATGCCGCCC CTACCGTGAGCATCTTCCCCCCCAGCAGCG AGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCCAGCGTG GTGTGCTTCCTGAACAACTTCTACCCCAAG GACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGG CAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAACA GCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCATGAGCAGCACCCTGACCCTG ACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAG CTACACCTGCGAGGCCACCCACAAGACCA GCACCAGCCCCATCGTGAAGAGCTTCAACC GGAACGAGTGC
Антитело		

MAB15 к ENTPD2 мыши		
SEQ ID NO: 182	HCDR1 (KABAT)	HYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (KABAT)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (KABAT)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 213	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFHHY
SEQ ID NO: 186	HCDR2 (CHOTHIA)	NTDTGN
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (CHOTHIA)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 214	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFHHYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 215	HCDR1 (IMGT)	GYTFHHYG
SEQ ID NO: 189	HCDR2 (IMGT)	INTDTGNP
SEQ ID NO: 190	HCDR3 (IMGT)	VRYGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 216	VH	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFHH YGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNPT YADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNED TATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO: 217	ДНК, кодирующая VH	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCC ACCACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG

		AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 218	HC	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFHH YGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNPT YADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNED TATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCL VKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSV FIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDV QISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIER TISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 219	ДНК, кодирующая HC	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCC ACCACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCAGCCAAGACCACCGCCC CCAGCGTGTACCCCCTGGCCCCCGTGTGCG GCGATACCACCGGCAGCAGCGTGACCCTG GGCTGCCTGGTGAAGGGCTACTTCCCCGAG

		CCCGTGACCCTGACCTGGAACAGCGGCTCC CTGAGCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCC GTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGTCC AGCTCCGTGACCGTGACAAGCAGCACCTG GCCCAGCCAGAGCATCACCTGCAACGTGG CCCACCCCGCCAGCAGCACCAAGGTGGAC AAGAAGATCGAGCCCAGGGGCCCCACCAT CAAGCCCTGCCCCCCCTGCAAGTGCCCAGC CCCCAACCTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTT CATCTTCCCCCCCAAGATCAAGGACGTGCT GATGATCAGCCTGAGCCCCATCGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGAGCGAGGACGACC CCGACGTGCAGATCAGCTGGTTCGTGAACA ACGTGGAGGTGCACACCGCCCAGACCCAG ACCCACCGGGAGGACTACAACAGCACCCT GCGCGTCGTGTCCGCCCTGCCCATCCAGCA CCAGGACTGGATGAGCGGCAAAGAATTCA AGTGCAAGGTGAACAACAAGGACCTGCCT GCCCCCATCGAGCGGACCATCAGCAAGCC CAAGGGCAGCGTGAGAGCCCCCCAGGTGT ACGTGCTGCCCCCTCCCGAGGAAGAGATG ACCAAGAAACAGGTGACACTGACCTGCAT GGTGACCGACTTCATGCCCGAGGACATCTA CGTGGAGTGGACCAACAACGGCAAGACCG AGCTGAACTACAAGAACACCGAGCCTGTG CTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATGTAC AGCAAGCTGCGGGTGGAGAAGAAAAACTG GGTGGAGCGGAACAGCTACAGCTGCAGCG TGGTGCACGAGGGCCTGCACAACCACCAC ACCACCAAGAGCTTCAGCCGGACCCCCGG CAAG
SEQ ID NO: 195	LCDR1 (KABAT)	KSSQSLFNSNTNKNYLN
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (KABAT)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (KABAT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 198	LCDR1	SQSLFNSNTNKNY

	(CHOTHIA)	
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (CHOTHIA)	YAS
SEQ ID NO: 200	LCDR3 (CHOTHIA)	WYSYPW
SEQ ID NO: 195	LCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	KSSQSLFNSNTNKNYLN
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 201	LCDR1 (IMGT)	QSLFNSNTNKNY
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (IMGT)	YAS
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (IMGT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 202	VL	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIK
SEQ ID NO: 203	ДНК, кодирующая VL	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 204	LC	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIKRADAAPTVSIFP

		PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRN EC
SEQ ID NO: 205	ДНК, кодирующая LC	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAACGCGCTGATGCCGCCC CTACCGTGAGCATCTTCCCCCCCAGCAGCG AGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCCAGCGTG GTGTGCTTCCTGAACAACTTCTACCCCAAG GACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGG CAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAACA GCTGGACCGACCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCATGAGCAGCACCCTGACCCTG ACCAAGGACGAGTACGAGCGGCACAACAG CTACACCTGCGAGGCCACCCACAAGACCA GCACCAGCCCCATCGTGAAGAGCTTCAACC GGAACGAGTGC
FAB24 антитела к ENTPD2 мыши		
SEQ ID NO: 182	HCDR1 (KABAT)	HYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (KABAT)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (KABAT)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 185	HCDR1 (CHOTHIA)	GYTFTHY

SEQ ID NO: 186	HCDR2 (CHOTHIA)	NTDTGN
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (CHOTHIA)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 187	HCDR1 (КОМБИНАЦИЯ)	GYTFTHYGMN
SEQ ID NO: 183	HCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	WINTDTGNPTYADDFKG
SEQ ID NO: 184	HCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	YGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 188	HCDR1 (IMGT)	GYTFTHYG
SEQ ID NO: 189	HCDR2 (IMGT)	INTDTGNP
SEQ ID NO: 190	HCDR3 (IMGT)	VRYGTLYSGYGFFFDS
SEQ ID NO: 191	VH	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFTH YGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNPT YADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNED TATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO: 192	ДНК, кодирующая VH	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCA CACACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 338	HC	QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFTH YGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTDTGNPT YADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISNLKNED

		TATYYCVRYGTLYSGYGFFFDSWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 339	ДНК, кодирующая HC	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCAGGAGCTGA GCTGAAGCAGCCTGGACAGTCGGTGAAGA TCTCCTGCAAGGCTTCAGGGTACACCTTCA CACACTATGGGATGAACTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGTCTAAAGTGGATGGG CTGGATCAACACTGACACTGGGAATCCAA CATATGCTGATGACTTCAAAGGACGGTTTG TCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTG CATATCTGCAGATCAGCAACCTCAAGAATG AAGACACGGCCACGTATTACTGTGTGAGAT ATGGAACCCTATATAGCGGATATGGGTTTT TTTTTGATTCCTGGGGCCAAGGGACCCTGG TCACCGTCTCCTCAgctagcaccaagggcccaagtgtgtt tcccctggcccccagcagcaagtctacttccggcggaactgctgccct gggttgcctggtgaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcctg gaactctggggctctgacttccggcgtgcacaccttccccgccgtgct gcagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtgacagtgccc tccagctctctgggaacccagacctatatctgcaacgtgaaccacaag cccagcaacaccaaggtggacaagagagtggagcccaagagctgc
SEQ ID NO: 195	LCDR1 (KABAT)	KSSQSLFNSNTNKNYLN
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (KABAT)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (KABAT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 198	LCDR1 (CHOTHIA)	SQSLFNSNTNKNY
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (CHOTHIA)	YAS
SEQ ID NO: 200	LCDR3 (CHOTHIA)	WYSYPW
SEQ ID NO: 195	LCDR1	KSSQSLFNSNTNKNYLN

	(КОМБИНАЦИЯ)	
SEQ ID NO: 196	LCDR2 (КОМБИНАЦИЯ)	YASTRHT
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (КОМБИНАЦИЯ)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 201	LCDR1 (IMGT)	QSLFNSNTNKNY
SEQ ID NO: 199	LCDR2 (IMGT)	YAS
SEQ ID NO: 197	LCDR3 (IMGT)	QQWYSYPWT
SEQ ID NO: 202	VL	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIK
SEQ ID NO: 203	ДНК, кодирующая VL	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 340	LC	DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITCKSSQSLFNS NTNKNYLNWYLQKPGQSPKLLFYYASTRHT GVPDRFIGSGSGTDFTLTITSVQDEDLADYYC QQWYSYPWTFGPGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
SEQ ID NO: 341	ДНК, кодирующая LC	GACATCATGATGACCCAGTCTCCATCATCC CTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAAGCCAC

		TATCACCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTTTT CAACAGTAACACCAACAAGAACTACTTGA ACTGGTACCTGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGTTCTATTATGCATCCACT AGGCATACTGGGGTCCCTGATCGCTTCATA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCACCAGTGTCCAGGATGAAGACCT GGCAGATTATTACTGTCAGCAGTGGTATAG CTACCCGTGGACGTTCGGACCTGGCACCAA GCTGGAAATCAAAcgtacggtggccgctcccagcgtgttc atcttccccccccagcgacgagcagctgaagagtggcaccgccagcg tggtgtgcctgctgaacaacttctacccccgggaggccaaggtgcagt ggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggagagc gtcaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagca ccctgaccctgagcaaggccgactacgagaagcataaggtgtacgc ctgcgaggtgacccaccagggcctgtccagccccgtgaccaagagc ttcaacaggggcgagtgc

В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела (например, антигенсвязывающий фрагмент) к ENTPD2 мыши содержат VH-домен, имеющий аминокислотную последовательность любого VH-домена, описанного в таблице 26. Другие подходящие антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) к ENTPD2 мыши могут содержать аминокислоты, которые были подвергнуты мутации, но при этом они характеризуются по меньшей мере 80-, 85-, 90-, 95-, 96-, 97-, 98- или 99-процентной идентичностью в VH-домене с VH-областями, показанными в последовательностях, описанных в таблице 26. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении также предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 мыши, где антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) содержат CDR VH, имеющую аминокислотную последовательность любой из CDR VH, перечисленных в таблице 26. В конкретных вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 мыши, содержащие одну, две, три, четыре, пять или больше CDR VH, имеющих аминокислотную последовательность любой из CDR VH, перечисленных в таблице 26 (или, в качестве альтернативы, состоящие из них).

В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела (например, антигенсвязывающий фрагмент) к ENTPD2 мыши содержат VL-домен, имеющий

аминокислотную последовательность любого VL-домена, описанного в таблице 26. Другие подходящие антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) к ENTPD2 мыши могут содержать аминокислоты, которые были подвергнуты мутации, но при этом они характеризуются по меньшей мере 80-, 85-, 90-, 95-, 96-, 97-, 98- или 99-процентной идентичностью в VL-домене с VL-областями, показанными в последовательностях, описанных в таблице 26. В настоящем изобретении также предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 мыши, при этом антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты) содержат CDR VL, имеющую аминокислотную последовательность любой из CDR VL, перечисленных в таблице 26. В частности, в настоящем изобретении предусмотрены антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающие фрагменты), которые специфично связываются с ENTPD2 мыши, содержащие одну, две, три или больше CDR VL, имеющих аминокислотную последовательность любой из CDR VL, перечисленных в таблице 26 (или, в качестве альтернативы, состоящие из них).

Другие антитела или фрагменты антител (например, антигенсвязывающий фрагмент) к ENTPD2 мыши, раскрытые в данном документе, содержат аминокислоты, которые были подвергнуты мутации, но при этом они характеризуются по меньшей мере 80-, 85-, 90-, 95-, 96-, 97-, 98- или 99-процентной идентичностью в CDR-областях с CDR-областями, показанными в последовательностях, описанных в таблице 26. В некоторых вариантах осуществления они содержат мутантные аминокислотные последовательности, в которых не более 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот были подвергнуты мутации в областях CDR при сравнении с областями CDR, показанными в последовательности, описанной в таблице 26.

В данном документе также предусмотрены последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют VH, VL, полноразмерную тяжелую цепь и полноразмерную легкую цепь антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые специфично связываются с ENTPD2 мыши, например, последовательности нуклеиновых кислот из таблицы 26. Такие последовательности нуклеиновых кислот могут быть оптимизированы для экспрессии в клетках млекопитающих.

В данном документе также предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с эпитопом в ENTPD2 мыши, где эпитоп содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять, по меньшей мере одиннадцать, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере тринадцать, по меньшей мере четырнадцать, по меньшей мере пятнадцать, по меньшей мере двадцать) из следующих остатков: Ser74, Cys75, Asp76, Tyr349, Tyr350, Asp353, Phe354, Thr357, Val358, Gly360, Gln385, Ala386, Arg387, Val388, Pro389, Gly390, Gln391, Thr393, Arg394 или Tyr398.

Каркасные области и сконструированные или модифицированные антитела

Антитело по настоящему изобретению также можно получить при использовании антитела, имеющего одну или несколько из последовательностей VH и/или VL, в качестве исходного материала для конструирования модифицированного антитела, при этом данное модифицированное антитело может иметь измененные свойства по сравнению с исходным антителом. Антитело может быть сконструировано посредством модификации одного или нескольких остатков в пределах одной или обеих вариабельных областей (т. е. VH и/или VL), например, в пределах одной или нескольких CDR-областей и/или в пределах одной или нескольких каркасных областей. Дополнительно или в качестве альтернативы, антитело может быть сконструировано посредством модификации остатков в пределах константной(константных) области(областей), например, для изменения эффекторной(эффекторных) функции(функций) антитела.

Один тип конструирования вариабельной области, который можно осуществлять, представляет собой прививание CDR. Антитела взаимодействуют с антигенами-мишенями преимущественно посредством аминокислотных остатков, которые расположены в шести областях, определяющих комплементарность (CDR), тяжелой и легкой цепей. По этой причине аминокислотные последовательности в пределах CDR являются более разнообразными среди отдельных антител, чем последовательности за пределами CDR. Поскольку последовательности CDR отвечают за большинство взаимодействий антитело-антиген, можно экспрессировать рекомбинантные антитела, которые имитируют свойства конкретных встречающихся в природе антител, посредством конструирования векторов экспрессии, которые содержат последовательности CDR из конкретного встречающегося в природе антитела, привитые на последовательности каркасных областей из другого антитела с другими свойствами (см., например, Riechmann, L. et al., 1998 Nature 332:323-327; Jones, P. et al., 1986 Nature 321:522-525; Queen, C. et al., 1989 Proc. Natl. Acad., U.S.A. 86:10029-10033; патент США № 5225539 авторства Winter и патенты США №№ 5530101; 5585089; 5693762 и 6180370 авторства Queen et al.).

Такие последовательности каркасных областей можно получить из общедоступных баз данных ДНК или опубликованных литературных источников, которые содержат последовательности генов антител зародышевого типа или перегруппированные последовательности антител. Например, последовательности ДНК зародышевого типа для генов вариабельной области человеческих тяжелой и легкой цепей можно найти в базе данных человеческих последовательностей зародышевого типа "VBase" (доступной в Интернете по адресу www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase), а также в Kabat, E. A., et al., 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. M., et al., 1992 J. Mol. Biol. 227:776-798; и Cox, J. P. L. et al., 1994 Eur. J Immunol. 24:827-836. Например, последовательности ДНК зародышевого типа для генов вариабельной области человеческих тяжелой и легкой цепей и перегруппированные последовательности антител можно найти в базе данных "IMGT" (доступной в Интернете по адресу www.imgt.org; см.

Lefranc, M.P. et al., 1999 Nucleic Acids Res. 27:209-212).

Примером последовательностей каркасных областей для применения в антителах и их антигенсвязывающих фрагментах по настоящему изобретению являются последовательности, которые являются структурно сходными с последовательностями каркасных областей, применяемыми в отобранных антителах и их антигенсвязывающих фрагментах по настоящему изобретению, например, консенсусные последовательности и/или последовательности каркасных областей, применяемые в моноклональных антителах по настоящему изобретению. Последовательности CDR1, 2 и 3 VH и последовательности CDR1, 2 и 3 VL могут быть привиты на каркасные области, которые имеют последовательность, идентичную той, что обнаруживается в гене иммуноглобулина зародышевого типа, из которого получена последовательность каркасной области, или последовательности CDR могут быть привиты на каркасные области, которые содержат одну или несколько мутаций по сравнению с последовательностями зародышевого типа. Например, было обнаружено, что в определенных случаях благоприятной является мутация остатков в пределах каркасных областей для сохранения или повышения способности антитела к связыванию с антигеном (см., например, патенты США №№ 5530101; 5585089; 5693762 и 6180370 авторства Queen et al.).

Другой тип модификации вариабельной области заключается в мутации аминокислотных остатков в пределах CDR1-, CDR2- и/или CDR3-областей VH и/или VL с улучшением таким образом одного или нескольких свойств связывания (например, аффинности) антитела, представляющего интерес, что известно как "созревание аффинности". Для введения мутации(мутаций) можно осуществлять сайт-направленный мутагенез или ПЦР-опосредованный мутагенез, и эффект в отношении связывания антитела или другого функционального свойства, представляющего интерес, можно оценивать в анализах in vitro или in vivo, описанных в данном документе и приведенных в разделе "Примеры". Можно вводить консервативные модификации (которые обсуждались выше). Мутации могут представлять собой аминокислотные замены, добавления или делеции. Более того, как правило, изменяют не более одного, двух, трех, четырех или пяти остатков в пределах CDR-области.

Можно использовать широкий спектр каркасных структур или остовов антител/иммуноглобулинов при условии, что полученный в результате полипептид содержит по меньшей мере одну связывающую область, которая специфично связывается с ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека). Такие каркасные структуры или остовы включают 5 основных идиотипов человеческих иммуноглобулинов, их антигенсвязывающих фрагментов и включают иммуноглобулины других видов животных, предпочтительно имеющие гуманизированные составляющие. Антитела с одной тяжелой цепью, такие как идентифицированные у верблюдовых, представляют особый интерес в этом отношении. Специалисты в данной области продолжают обнаруживать и разрабатывать новые каркасные структуры, остовы и фрагменты.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу получения неиммуноглобулиновых антител с использованием неиммуноглобулиновых остовов, на которые можно привить CDR по настоящему изобретению. Можно использовать известные или будущие неиммуноглобулиновые каркасные структуры и остовы, при условии, что они содержат связывающую область, специфичную в отношении белка-мишени ENTPD2. Известные неиммуноглобулиновые каркасные структуры или остовы включают без ограничения фибронектин (Compound Therapeutics, Inc., Уолтем, Массачусетс), анкирин (Molecular Partners AG, Цюрих, Швейцария), доменные антитела (Domantis, Ltd., Кембридж, Массачусетс и Ablynx NV, Звейнарде, Бельгия), липокалин (Pieris Proteolab AG, Фрайзинг, Германия), небольшие модульные иммунофармацевтические средства (Trubion Pharmaceuticals Inc., Сиэтл, Вашингтон), максиантитела (Avidia, Inc., Маунтин-Вью, Калифорния), белок A (Affibody AG, Швеция) и аффилин (гамма-кристаллин или убиквитин) (Scil Proteins GmbH, Галле, Германия).

Фибронектиновые остовы имеют в своей основе домен фибронектина III типа (например, десятый модуль фибронектина III типа (10 домен Fn3)). Домен фибронектина III типа имеет 7 или 8 бета-тяжей, которые распределены между двумя бета-складчатыми слоями, которые сами упакованы внахлест друг с другом с образованием сердцевины белка и при этом дополнительно содержат петли (аналогичные CDR), которые соединяют бета-тяжи друг с другом и являются доступными для растворителя. По меньшей мере три такие петли присутствуют на каждом краю сэндвича из бета-складчатых слоев, где край представляет собой границу белка, перпендикулярную направлению бета-тяжей (см. патент США № 6818418). Эти остовы на основе фибронектина не относятся к иммуноглобулинам, хотя их общая укладка близко сходна с таковой у наименьшего функционального фрагмента антитела - вариабельной области тяжелой цепи, которая содержит полную антигенраспознающую единицу в IgG верблюда и ламы. Благодаря этой структуре неиммуноглобулиновое антитело имитирует свойства связывания с антигеном, которые являются сходными по своей природе и аффинности со свойствами антител. Эти остовы можно применять в стратегии случайного выбора и перетасовки петель in vitro, которая является сходной с процессом созревания аффинности антител in vivo. Эти молекулы на основе фибронектина можно применять в качестве остовов, при этом петлевые области молекулы могут быть заменены на CDR по настоящему изобретению с помощью стандартных методик клонирования.

Анкириновая технология основана на применении белков с модулями с анкириновыми повторами в качестве остовов для переноса вариабельных областей, которые можно применять для связывания с различными мишенями. Модуль с анкириновым повтором представляет собой полипептид из 33 аминокислот, состоящий из двух антипараллельных альфа-спиралей и бета-изгиба. Связывание вариабельных областей оптимизируют главным образом путем применения рибосомного дисплея.

Авимеры получают из природного белка, содержащего A-домен, такого как LRP-1. Эти домены используются по своей природе для белок-белковых взаимодействий, и у

человека более 250 белков имеют в основе своей структуры А-домены. Авимеры состоят из ряда различных мономерных (2-10) "А-доменов", связанных посредством аминокислотных линкеров. Авимеры, которые могут связываться с антигеном-мишенью, можно создавать с помощью методики, описанной, например, в публикациях заявок на патент США №№ 20040175756; 20050053973; 20050048512 и 20060008844.

Аффинные лиганды-аффитела представляют собой небольшие простые белки, состоящие из трехспирального пучка на основе остова из одного из IgG-связывающих доменов белка А. Белок А представляет собой поверхностный белок бактерии Staphylococcus aureus. Этот доменный остов состоит из 58 аминокислот, 13 из которых выбраны случайным образом для создания библиотек аффител с большим количеством вариантов лигандов (см., например, патент США № 5831012). Молекулы аффител имитируют антитела, они имеют молекулярную массу 6 кДа в сравнении с молекулярной массой антител, которая составляет 150 кДа. Несмотря на свой небольшой размер, связывающий участок в молекулах аффител является сходным с таковым у антитела.

Антикалины представляют собой продукты, разработанные компанией Pieris ProteoLab AG. Их получают из липокалинов - широко распространенной группы небольших и устойчивых белков, которые обычно участвуют в физиологическом транспорте или запасании химически чувствительных или нерастворимых соединений. Несколько природных липокалинов встречаются в тканях или биологических жидкостях человека. Архитектура белков напоминает иммуноглобулины с гипервариабельными петлями поверх жесткого каркаса. Тем не менее, в противоположность антителам или их рекомбинантным фрагментам липокалины состоят из одной полипептидной цепи со 160-180 аминокислотными остатками, при этом они лишь незначительно превышают по размеру один домен иммуноглобулина. Набор из четырех петель, которые образуют связывающий карман, проявляет выраженную структурную пластичность и допускает наличие ряда боковых цепей. Таким образом, связывающий участок можно видоизменить с помощью фирменного способа для того, чтобы распознавать заданные молекулы-мишени различной формы с высокой аффинностью и специфичностью. Один белок из семейства липокалинов - билин-связывающий белок (BBP) из Pieris brassicae - применяли для разработки антикалинов посредством осуществления мутагенеза набора из четырех петель. Одним примером заявки на патент, в которой описываются антикалины, является PCT-публикация № WO 199916873.

Молекулы аффилинов представляют собой небольшие белки, отличные от иммуноглобулинов, которые разработаны с конкретными видами аффинности в отношении белков и малых молекул. Новые молекулы аффилинов можно очень быстро отобрать из двух библиотек, каждая из которых имеет в своей основе отличный от других каркасный белок человеческого происхождения. Молекулы аффилинов не проявляют какой-либо структурной гомологии с белками, представляющими собой иммуноглобулины. В настоящее время используется два аффилиновых остова, один из которых представляет собой гамма-кристаллин, являющийся структурным белком

хрусталика глаза человека, а другой представляет собой белок из суперсемейства "убиквитинов". Оба человеческих остова являются весьма небольшими, проявляют стабильность при высоких температурах и являются наиболее устойчивыми к изменениям pH и денатурирующим средствам. Эта высокая стабильность в основном обусловлена развернутой бета-складчатой структурой белков. Примеры белков, полученных из гамма-кристаллина, описаны в WO 200104144, а примеры "убиквитиноподобных" белков описаны в WO 2004106368.

Миметики эпитопов белков (PEM) представляют собой циклические пептидоподобные молекулы среднего размера (MW 1-2 кДа), имитирующие бета-шпилечные вторичные структуры белков - основную вторичную структуру, участвующую в белок-белковых взаимодействиях.

Сконструированные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению включают те, в которых были осуществлены модификации в остатках каркасных областей в пределах VH и/или VL, например, для улучшения свойств антитела. Как правило, такие модификации каркасных областей осуществляют для уменьшения иммуногенности антитела. Например, один подход заключается в осуществлении "обратной мутации" одного или нескольких остатков каркасных областей с восстановлением соответствующей последовательности зародышевого типа. Более конкретно, антитело, которое подверглось соматической мутации, может содержать остатки каркасных областей, которые отличаются от последовательности зародышевого типа, из которой получено антитело. Такие остатки могут быть идентифицированы посредством сравнения последовательностей каркасных областей антитела с последовательностями зародышевого типа, из которых получено антитело. Для возвращения последовательностей каркасных областей к их конфигурации зародышевого типа можно осуществлять "обратные" соматические мутации с восстановлением последовательности зародышевого типа посредством, например, сайт-направленного мутагенеза. Также предполагается, что такие "подвергнутые обратной мутации" антитела охватываются настоящим изобретением.

Другой тип модификации каркасной области предусматривает мутацию одного или нескольких остатков в пределах каркасной области или даже в пределах одной или нескольких CDR-областей для удаления Т-клеточных эпитопов со снижением таким образом потенциальной иммуногенности антитела. Данный подход также называется "деиммунизацией" и более подробно описан в публикации заявки на патент США № 20030153043 авторства Carr et al.

В качестве дополнения или альтернативы модификациям, осуществляемым в пределах каркасных или CDR-областей, антитела по настоящему изобретению можно конструировать таким образом, чтобы они содержали модификации в пределах Fc-области, как правило, для изменения одного или нескольких функциональных свойств антитела, таких как период полужизни в сыворотке крови, фиксация комплемента, связывание с Fc-рецептором и/или антигензависимая клеточная цитотоксичность. Кроме

того, антитело по настоящему изобретению может быть химически модифицировано (например, к антителу могут быть присоединены один или несколько химических компонентов), или оно может быть модифицировано с изменением характера его гликозилирования, опять-таки для изменения одного или нескольких функциональных свойств антитела. Каждый из этих вариантов осуществления более подробно описан ниже. Нумерация остатков в Fc-области производится согласно EU-индексу по Kabat.

В одном варианте осуществления шарнирную область CH1 модифицируют таким образом, что изменяется число цистеиновых остатков в шарнирной области, например, увеличивается или уменьшается. Этот подход дополнительно описан в патенте США № 5677425 авторства Bodmer et al. Число цистеиновых остатков в шарнирной области CH1 изменяют, например, с целью облегчения сборки легких и тяжелых цепей или с целью увеличения или уменьшения стабильности антитела.

В другом варианте осуществления фрагмент Fc-шарнирная область антитела подвергают мутации для уменьшения биологического периода полужизни антитела. Более конкретно, одну или несколько аминокислотных мутаций вводят в область контакта между доменами CH2-CH3 фрагмента Fc-шарнирная область, вследствие чего антитело характеризуется нарушенным связыванием с белком A стафилококка (SpA) по сравнению со связыванием нативного домена Fc-шарнирная область с SpA. Этот подход описан более подробно в патенте США № 6165745 авторства Ward et al.

В другом варианте осуществления антитело модифицируют для увеличения его биологического периода полужизни. Возможны различные подходы. Например, можно вводить одну или несколько из следующих мутаций: T252L, T254S, T256F, как описано в патенте США № 6277375 авторства Ward. В качестве альтернативы для увеличения биологического периода полужизни антитело можно изменить в пределах CH1- или CL-области таким образом, чтобы оно содержало эпитоп связывания рецептора реутилизации, образованный двумя петлями CH2-домена Fc-области IgG, как описано в патентах США №№ 5869046 и 6121022 авторства Presta et al.

В одном варианте осуществления Fc-область изменяют посредством замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком с целью изменения эффекторных функций антитела. Например, одну или несколько аминокислот можно заменить другим аминокислотным остатком таким образом, чтобы антитело характеризовалось измененной аффинностью в отношении эффекторного лиганда, но сохраняло способность к связыванию с антигеном исходного антитела. Эффекторный лиганд, аффинность в отношении которого изменяют, может представлять собой, например, Fc-рецептор или компонент C1 системы комплемента. Этот подход описан более подробно в патентах США №№ 5624821 и 5648260, оба авторства Winter et al.

В другом варианте осуществления одну или несколько аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков, можно заменить другим аминокислотным остатком таким образом, чтобы антитело характеризовалось измененным связыванием с C1q и/или

сниженной или устраненной комплементзависимой цитотоксичностью (CDC). Этот подход описан более подробно в патенте США № 6194551 авторства Idusogie et al.

В другом варианте осуществления один или несколько аминокислотных остатков изменяют, чтобы таким образом изменить способность антитела к фиксации комплемента. Этот подход дополнительно описан в PCT-публикации WO 94/29351 авторства Bodmer et al.

В некоторых вариантах осуществления ENTPD2-связывающие антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат константную область IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG1 человека включает в себя Fc-область.

В некоторых вариантах осуществления Fc-область ENTPD2-связывающих антител или их антигенсвязывающих фрагментов содержит одну или несколько мутаций, опосредующих сниженную или отсутствующую антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) или комплементзависимую цитотоксичность (CDC). В некоторых вариантах осуществления аминокислотные остатки L234 и L235 в константной области IgG1 заменены на A234 и A235. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток N267 в константной области IgG1 заменен на A267. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные остатки D265 и P329 в константной области IgG1 заменены на A265 и A329. В определенных вариантах осуществления Fc-область необязательно содержит мутацию или комбинацию мутаций, придающие сниженную эффекторную функцию, выбранные из любой из D265A, P329A, P329G, N297A, D265A/P329A, D265A/N297A, L234/L235A, P329A/L234A/L235A, и P329G/L234A/L235A. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит мутацию или комбинацию мутаций, придающие сниженную эффекторную функцию, выбранные из любой из D265A, P329A, P329G, N297A, D265A/P329A, D265A/N297A, L234/L235A, P329A/L234A/L235A, и P329G/L234A/L235A (все положения указаны согласно нумерации EU).

В еще одном варианте осуществления Fc-область модифицируют для увеличения способности антитела опосредовать антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) и/или для увеличения аффинности антитела в отношении Fc-гамма-рецептора посредством модификации одной или нескольких аминокислот. Этот подход дополнительно описан в PCT-публикации WO 00/42072 авторства Presta. Более того, связывающие участки в IgG1 человека для Fc-гамма RI, Fc-гамма RII, Fc-гамма RIII и FcRn были картированы, и были описаны варианты с улучшенным связыванием (см. Shields, R. L. et al., 2001 J. Biol. Chem. 276:6591-6604). Например, Fc-область может содержать мутацию или комбинацию мутаций, придающие увеличенную эффекторную функцию, выбранные из любой из S239D, I332E, A330L, S298A, E333A, E333S, K334A, K236A, K236W, F243L, P247I, D280H, K290S, R292P, S298D, S298V, Y300L, V305I, A339D, A339Q, A339T, P396L (все положения указаны согласно нумерации EU).

В еще одном варианте осуществления модифицируют характер гликозилирования антитела. Например, может быть получено агликозилированное антитело (т. е. антитело

без гликозилирования). Характер гликозилирования можно изменять, например, для увеличения аффинности антитела в отношении антигена. Такие модификации углеводов можно осуществлять, например, посредством изменения одного или нескольких сайтов гликозилирования в пределах последовательности антитела. Например, можно произвести одну или несколько аминокислотных замен, которые приводят к устранению одного или нескольких сайтов гликозилирования в каркасной части вариабельной области, устраняя таким образом гликозилирование в этом сайте. Такое агликозилирование может увеличивать аффинность антитела в отношении антигена. Такой подход описан более подробно в патентах США №№ 5714350 и 6350861 авторства Co et al.

Дополнительно или в качестве альтернативы может быть получено антитело, которое характеризуется измененным типом гликозилирования, как, например, гипофукозилированное антитело, имеющее уменьшенные количества фукозильных остатков, или антитело, имеющее увеличенное содержание структур с остатком GlcNAc в точке ветвления. Было продемонстрировано, что такие измененные паттерны гликозилирования увеличивают способность антител к ADCC. Такие модификации углеводов можно осуществлять, например, посредством экспрессии антитела в клетке-хозяине с измененным механизмом гликозилирования. Клетки с измененным механизмом гликозилирования были описаны в уровне техники, и их можно использовать в качестве клеток-хозяев, в которых экспрессируются рекомбинантные антитела по настоящему изобретению, с получением таким образом антитела с измененным характером гликозилирования. Например, в EP 1176195 авторства Hang et al. описывается линия клеток с функциональным нарушением гена FUT8, который кодирует фукозилтрансферазу, вследствие чего антитела, экспрессирующиеся в такой линии клеток, демонстрируют гипофукозилирование. В PCT-публикации WO 03/035835 авторства Presta описывается вариант линии клеток CHO - клетки Lecl3 с пониженной способностью к присоединению фукозы к углеводам, связанным с Asn(297), что также приводит к гипофукозилированию антител, экспрессирующихся в такой клетке-хозяине (см. также Shields, R. L. et al., 2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740). В PCT-публикации WO 99/54342 авторства Umana et al. описываются линии клеток, сконструированные для экспрессии гликозилтрансфераз, модифицирующих гликопротеины (например, бета-(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnTIII)), благодаря чему антитела, экспрессирующиеся в сконструированных линиях клеток, демонстрируют увеличенное содержание структур с остатком GlcNAc в точке ветвления, что приводит к увеличению активности ADCC у антител (см. также Umana et al., 1999 Nat. Biotech. 17:176-180).

В некоторых вариантах осуществления антитело к ENTPD2 относится к изотипу IgG1 с одной или несколькими мутациями (например, по сравнению с Fc-областью дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или несколько мутаций выбраны из N297A, N297Q (Bolt S et al. (1993) Eur J Immunol 23:403-411), D265A, 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** Viral 75, 12161-12168; Oganesyan et al., (2008). Acta Crystallographica 64, 700-704), P331S (Oganesyan 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 аминокислоты указано в соответствии с системой нумерации EU или Kabat. В определенных вариантах осуществления Fc-область дополнительно содержит аминокислотную делецию в положении, соответствующем глицину 236 в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1 и имеет константную область тяжелой цепи, которая содержит мутацию C220S в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или несколько мутаций, выбранных из L234F, L235E, P331S, D265A и/или N297Q, в соответствии с системой нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или несколько мутаций, выбранных из L234A, L235A, D265A, P329A, N297A, N297Q в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

В определенных вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG2 человека включает в себя Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или несколько мутаций (например, по сравнению с Fc-областью дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или несколько мутаций выбраны из V234A, G237A, P238S, H268A, H268E, H268Q, V309L, N297A, N297Q, V309L, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, и/или T256E, где положение аминокислоты указано в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

В определенных вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG4 человека включает в себя Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну или несколько мутаций (например, по сравнению с Fc-областью дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или несколько мутаций выбраны из E233P, F234V, L234A, L235A, G237A, E318A (Hutchins et al. (1995) Proc Natl Acad Sci USA, 92:11980-11984), S228P, 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), T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A и/или N297Q, где положение аминокислоты указано в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах осуществления Fc-область дополнительно содержит одну

или несколько дополнительных мутаций, выбранных из M252Y, S254T и/или T256E, где положение аминокислоты указано в соответствии с системой нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько вариантов IgG1, описанных в данном документе, можно использовать в комбинации с мутацией A330L (Lazar et al., (2006) Proc Natl Acad Sci USA, 103:4005-4010) или одной или несколькими из мутаций L234F, L235E и/или P331S (Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA, 105:20167-20172), где положение аминокислоты указано в соответствии с системой нумерации EU или Kabat, для устранения активации комплемента. В некоторых вариантах осуществления варианты IgG, описанные в данном документе, можно использовать в комбинации с одной или несколькими мутациями для улучшения периода полужизни антитела в сыворотке крови человека (например, мутациями 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).

В некоторых вариантах осуществления вариант IgG4 по настоящему изобретению можно использовать в комбинации 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 несколькими мутациями, описанными в Peters et al., (2012) J Biol Chem. 13;287(29):24525-33) для улучшения стабилизации антитела.

В некоторых вариантах осуществления антитело имеет Fc-область, выбранную из Fc-области IgG2, Fc-области IgG4 или гибридной Fc-области IgG2/IgG4.

Антитела верблюдовых

У белков, представляющих собой антитела, полученные из представителей семейства, к которому относятся двугорбые верблюды и одногорбые верблюды (Camelus bactrianus и Camelus dromaderius), в том числе представителей из Нового Света, таких как виды лам (Lama pacos, Lama glama и Lama vicugna), были определены характеристики размера, сложности структуры и антигенности у субъектов-людей. В определенных антителах IgG из этого семейства млекопитающих, которые обнаруживаются в природе, отсутствуют легкие цепи, и, следовательно, они по своей структуре отличаются от типичной четырехцепочечной четвертичной структуры, имеющей две тяжелые и две легкие цепи, в антителах от других животных. См. PCT/EP93/02214 (WO 94/04678, опубликованная 3 марта 1994 г.).

Область антитела верблюдовых, которая представляет собой небольшой отдельный вариабельный домен, идентифицированный как VHH, можно получить с помощью генной инженерии с получением небольшого белка, характеризующегося высокой аффинностью в отношении мишени, что дает в результате полученный из антитела низкомолекулярный белок, известный как "нанотело верблюдовых". См. патент США № 5759808, выданный 2 июня 1998 г.; см. также Stijlemans, B. et al., 2004 J Biol Chem 279: 1256-1261; Dumoulin, M. et al., 2003 Nature 424: 783-788; Pleschberger, M. et al. 2003 Bioconjugate Chem 14: 440-448; Cortez-Retamozo, V. et al. 2002 Int J Cancer 89: 456-62; и Lauwereys, M. et al. 1998 EMBO J 17: 3512-3520. Сконструированные библиотеки антител и фрагментов антител

верблюдовых являются коммерчески доступными, например, от Ablynx, Гент, Бельгия. Как и в случае с другими антителами и их антигенсвязывающими фрагментами, происходящими из организма, отличного от человека, аминокислотную последовательность антитела верблюдовых можно изменить рекомбинантным путем с получением последовательности, которая более близко напоминает человеческую последовательность, т. е. нанотело можно "гуманизировать". Таким образом можно дополнительно снижать природную низкую антигенность антител верблюдовых у людей.

Нанотело верблюдовых имеет молекулярную массу, составляющую примерно одну десятую от массы молекулы IgG человека, и данный белок имеет физический диаметр, составляющий лишь несколько нанометров. Одним следствием небольшого размера является способность нанотел верблюдовых связываться с антигенными сайтами, которые являются функционально невидимыми для белков, представляющих собой антитела, большего размера, т. е. нанотела верблюдовых являются применимыми в качестве реагентов для выявления антигенов, которые в ином случае являются скрытыми при использовании классических иммунологических методик, и в качестве возможных терапевтических средств. Таким образом, еще одним следствием небольшого размера является то, что нанотело верблюдовых может осуществлять ингибирование в результате связывания с конкретным сайтом в бороздке или узкой щели белка-мишени и, следовательно, может служить в роли, которая более близко напоминает функцию классического низкомолекулярного лекарственного средства, чем таковую у классического антитела.

Низкая молекулярная масса и компактный размер дополнительно приводят к тому, что нанотела верблюдовых являются чрезвычайно термостабильными, стабильными к экстремальным значениям pH и к протеолитическому расщеплению и характеризуются слабой антигенностью. Другим следствием является то, что нанотела верблюдовых легко перемещаются из кровеносной системы в ткани и даже пересекают гематоэнцефалический барьер и могут обеспечивать лечение нарушений, которые поражают нервную ткань. Нанотела могут дополнительно способствовать транспорту лекарственных средств через гематоэнцефалический барьер. См. заявку на патент США 20040161738, опубликованную 19 августа 2004 г. Эти признаки в сочетании с низкой антигенностью у людей указывают на большой терапевтический потенциал. Кроме того, эти молекулы могут полностью экспрессироваться в прокариотических клетках, таких как E. coli, и они экспрессируются в виде слитых белков с белками бактериофага и являются функциональными.

Соответственно, признаком настоящего изобретения является антитело или нанотело верблюдовых, характеризующееся высокой аффинностью в отношении ENTPD2. В одном варианте осуществления в данном документе антитело или нанотело верблюдовых продуцируется в естественных условиях у животного из семейства верблюдовых, т. е. оно продуцируется верблюдовыми после иммунизации с помощью ENTPD2 или его пептидного фрагмента с применением методик, описанных в данном документе для других антител. В качестве альтернативы ENTPD2-связывающее нанотело

верблюдовых конструируют, т. е. получают посредством отбора, например, из фаговой библиотеки, в которой отображены подвергнутые соответствующему мутагенезу белки, представляющие собой нанотела верблюдовых, с применением процедур пэннинга с ENTPD2 в качестве мишени, как описано в примерах в данном документе. Сконструированные нанотела можно дополнительно адаптировать к конкретным требованиям с помощью генной инженерии так, чтобы они имели период полужизни у получающего их субъекта, составляющий от 45 минут до двух недель. В конкретном варианте осуществления антитело или нанотело верблюдовых получают посредством прививания последовательностей CDR тяжелой или легкой цепей человеческих антител по настоящему изобретению на последовательности каркасных областей нанотела или однодоменного антитела, как описано, например, в PCT/EP93/02214.

Биспецифические молекулы и поливалентные антитела

В другом аспекте настоящее изобретение относится к биспецифическим или полиспецифическим молекулам, содержащим ENTPD2-связывающее антитело или его фрагмент по настоящему изобретению. Антитело по настоящему изобретению или его антигенсвязывающие области можно дериватизировать или связать с другой функциональной молекулой, например, с другим пептидом или белком (например, другим антителом или лигандом рецептора) с получением биспецифической молекулы, которая связывается с по меньшей мере двумя различными связывающими участками или молекулами-мишенями. Антитело по настоящему изобретению фактически можно дериватизировать или связать с более чем одной другой функциональной молекулой с получением полиспецифических молекул, которые связываются с более чем двумя различными связывающими участками и/или молекулами-мишенями; также предполагается, что такие полиспецифические молекулы охватываются используемым в данном документе термином "биспецифическая молекула". Для создания биспецифической молекулы по настоящему изобретению антитело по настоящему изобретению можно функционально связать (например, посредством химического связывания, генетического слияния, нековалентной ассоциации или иным образом) с одной или несколькими другими связывающими молекулами, такими как другое антитело, фрагмент антитела, пептид или связывающий миметик, в результате чего получают биспецифическую молекулу.

Соответственно, настоящее изобретение включает биспецифические молекулы, содержащие по меньшей мере один первый элемент, обеспечивающий специфичность связывания с ENTPD2, и второй элемент, обеспечивающий специфичность связывания со вторым эпитопом-мишенью. Например, второй эпитоп-мишень представляет собой другой эпитоп ENTPD2, отличающийся от первого эпитопа-мишени.

Кроме того, в настоящем изобретении, в котором биспецифическая молекула является полиспецифической, молекула может дополнительно содержать третий элемент, обеспечивающий специфичность связывания, в дополнение к таковым для первого и второго эпитопов-мишеней.

В одном варианте осуществления биспецифические молекулы по настоящему изобретению содержат в качестве элемента, обеспечивающего специфичность связывания, по меньшей мере одно антитело или его фрагмент антитела, в том числе, например, Fab, Fab', F(ab')2, Fv или одноцепочечный Fv. Антитело также может представлять собой димер легких цепей или тяжелых цепей или любой их минимальный фрагмент, такой как Fv или одноцепочечная конструкция, которая описана в Ladner et al., патент США № 4946778.

Диатела представляют собой двухвалентные биспецифические молекулы, в которых VH- и VL-домены экспрессируются в одной полипептидной цепи и соединены линкером, который является слишком коротким, чтобы обеспечивать возможность спаривания между двумя доменами в одной и той же цепи. VH- и VL-домены спариваются с комплементарными доменами другой цепи, создавая таким образом два антигенсвязывающих участка (см., например, Holliger et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak et al., 1994 Structure 2:1121-1123). Диатела можно получать посредством экспрессии двух полипептидных цепей со структурой VHA-VLB и VHB-VLA (конфигурация VH-VL) либо VLA-VHB и VLB-VHA (конфигурация VL-VH) в одной и той же клетке. Большинство из них могут экспрессироваться в растворимой форме у бактерий. Одноцепочечные диатела (scDb) получают путем соединения двух полипептидных цепей, образующих диатело, с линкером размером примерно 15 аминокислотных остатков (см. Holliger and Winter, 1997 Cancer Immunol. Immunother., 45 (3-4):128-30; Wu et al., 1996 Immunotechnology, 2 (1):21-36). scDb могут экспрессироваться у бактерий в растворимой активной мономерной форме (см. Holliger and Winter, 1997 Cancer Immunol. Immunother., 45 (34): 128-30; Wu et al., 1996 Immunotechnology, 2 (1):21-36; Pluckthun and Pack, 1997 Immunotechnology, 3 (2): 83-105; Ridgway et al., 1996 Protein Eng., 9 (7):617-21). Диатело можно сливать с Fc с получением "дидиатела" (см. Lu et al., 2004 J. Biol. Chem., 279 (4):2856-65).

Другие антитела, которые могут использоваться в биспецифических молекулах по настоящему изобретению, представляют собой мышиные, химерные и гуманизированные моноклональные антитела.

Биспецифические молекулы по настоящему изобретению можно получить посредством конъюгирования составляющих элементов, обеспечивающих специфичность связывания, с помощью способов, известных из уровня техники. Например, каждый элемент, обеспечивающий специфичность связывания, в биспецифической молекуле можно получить отдельно, а затем конъюгировать с другими. Если элементы, обеспечивающие специфичность связывания, представляют собой белки или пептиды, то для ковалентного конъюгирования можно применять ряд связывающих или сшивающих средств. Примеры сшивающих средств включают белок A, карбодиимид, N-сукцинимидил-5-ацетилтиоацетат (SATA), 5,5'-дитиобис(2-нитробензойную кислоту) (DTNB), o-фенилендималеимид (oPDM), N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP) и сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат

(сульфо-SMCC) (см., например, Karpovsky et al., 1984 J. Exp. Med. 160:1686; Liu, M A et al., 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648). Другие способы включают способы, описанные в Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al., 1985 Science 229:81-83, и Glennie et al., 1987 J. Immunol. 139: 2367-2375. Конъюгирующие средства представляют собой SATA и сульфо-SMCC, оба из которых доступны от Pierce Chemical Co. (Рокфорд, Иллинойс).

Если элементы, обеспечивающие специфичность связывания, представляют собой антитела, их можно конъюгировать посредством образования связей между сульфгидрильными группами С-концевых шарнирных областей двух тяжелых цепей. В конкретном варианте осуществления шарнирную область модифицируют таким образом, чтобы она содержала нечетное количество остатков с сульфгидрильной группой, например, один, перед конъюгированием.

В качестве альтернативы оба элемента, обеспечивающие специфичность связывания, могут быть закодированы в одном и том же векторе и могут экспрессироваться и собираться в одной и той же клетке-хозяине. Этот способ является особенно применимым в случае, когда биспецифическая молекула представляет собой слитый белок mAb X mAb, mAb X Fab, Fab X F(ab')2 или лиганд X Fab. Биспецифическая молекула по настоящему изобретению может представлять собой одноцепочечную молекулу, содержащую одно одноцепочечное антитело и детерминанту связывания, или одноцепочечную биспецифическую молекулу, содержащую две детерминанты связывания. Биспецифические молекулы могут содержать по меньшей мере две одноцепочечные молекулы. Способы получения биспецифических молекул описаны, например, в патенте США № 5260203; патенте США № 5455030; патенте США № 4881175; патенте США № 5132405; патенте США № 5091513; патенте США № 5476786; патенте США № 5013653; патенте США № 5258498 и патенте США № 5482858.

Связывание биспецифических молекул со своими специфическими мишенями можно подтвердить, например, с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), радиоиммунологического анализа (REA), FACS-анализа, биологического анализа (например, ингибирования роста) или вестерн-блот-анализа. В каждом из этих анализов обычно выявляют наличие комплексов белок-антитело, представляющих особый интерес, путем использования меченого реагента (например, антитела), специфичного в отношении комплекса, представляющего интерес.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрены поливалентные соединения, содержащие по меньшей мере две идентичные или отличающиеся антигенсвязывающие части антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению, связывающиеся с ENTPD2. Антигенсвязывающие части могут быть связаны друг с другом посредством слияния белков или ковалентной или нековалентной связи. В качестве альтернативы способы связывания были описаны для биспецифических молекул. Четырехвалентные соединения можно получить, например, путем сшивания антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению с антителом или

антигенсвязывающим фрагментом, которые связываются с константными областями антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению, например, Fc или шарнирной областью.

Тримеризующий домен описан, например, в патенте EP 1012280B1, принадлежащем Borean. Пентамеризующие модули описаны, например, в PCT/EP97/05897.

В некоторых вариантах осуществления ENTPD2-связывающие антитела или их антигенсвязывающие фрагменты представляют собой биспецифические антитела, которые распознают первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах осуществления первый антиген представляет собой ENTPD2 человека или его встречающийся в природе вариант. В некоторых вариантах осуществления второй антиген может представлять собой белок, липид, полисахарид или гликолипид, экспрессирующийся на одной или нескольких опухолевых клетках.

Антитела с удлиненным периодом полужизни

В настоящем изобретении предусмотрены антитела, которые специфично связываются с ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека) и характеризуются удлиненным периодом полужизни in vivo.

Многие факторы могут влиять на период полужизни белка in vivo. Например, к ним относятся фильтрация в почках, метаболизм в печени, разрушение посредством протеолитических ферментов (протеаз) и иммунные ответы (например, нейтрализация белка посредством антител и поглощение макрофагами и дендритными клетками). Для продления периода полужизни антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению можно применять ряд стратегий. Например, это можно осуществлять посредством химического связывания с полиэтиленгликолем (PEG), PEG ReCODE, остовом антитела, полисиаловой кислотой (PSA), гидроксиэтилкрахмалом (HES), альбуминсвязывающими лигандами и углеводными защитными фрагментами; посредством генетического слияния с белками, связывающимися с белками сыворотки крови, такими как альбумин, IgG, FcRn и трансферрин; посредством связывания (генетического или химического) с другими связывающими компонентами, которые связываются с белками сыворотки крови, такими как нанотела, Fab, дарпины, авимеры, аффитела и антикалины; посредством генетического слияния с rPEG, альбумином, доменом альбумина, альбуминсвязывающими белками и Fc; или посредством включения в наноносители, составы с медленным высвобождением или медицинские устройства.

Для продления циркуляции антител в сыворотке крови in vivo молекулы инертного полимера, такого как высокомолекулярный PEG, могут быть присоединены к антителам или их фрагментам с использованием или без использования линкера с несколькими функциональными группами посредством сайт-специфического конъюгирования PEG с N- или C-концом антител либо посредством эпсилон-аминогрупп, присутствующих в лизиновых остатках. Для пегилирования антитела, как правило, осуществляют реакцию антитела, его антигенсвязывающего фрагмента с полиэтиленгликолем (PEG), таким как

реакционноспособный сложный эфир или альдегидное производное PEG, в условиях, при которых одна или несколько групп PEG присоединяются к антителу или фрагменту антитела. Пегилирование можно осуществлять посредством реакции ацилирования или реакции алкилирования с реакционноспособной молекулой PEG (или аналогичным реакционноспособным водорастворимым полимером). Предполагается, что используемый в данном документе термин "полиэтиленгликоль" охватывает любую из форм PEG, которые применялись для дериватизации других белков, как, например, моно(C1-C10)алкокси- или арилоксиполиэтиленгликоль или полиэтиленгликоль-малеимид. В одном варианте осуществления антитело, которое должно быть пегилировано, представляет собой агликозилированное антитело. Будет применяться дериватизация с помощью линейного или разветвленного полимера, которая приводит к минимальной потере биологической активности. Степень конъюгирования можно тщательно контролировать посредством SDS-PAGE и масс-спектрометрии для обеспечения надлежащего конъюгирования молекул PEG с антителами. Непрореагировавший PEG можно отделить от конъюгатов антитело-PEG посредством эксклюзионной или ионообменной хроматографии. PEG-дериватизированные антитела можно тестировать в отношении активности связывания, а также в отношении эффективности in vivo с применением способов, хорошо известных специалистам в данной области, например, посредством иммунологических анализов, описанных в данном документе. Способы пегилирования белков известны из уровня техники и могут применяться по отношению к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам по настоящему изобретению. См., например, EP 0154316 авторства Nishimura et al. и EP 0401384 авторства Ishikawa et al.

Другие модифицированные технологии пегилирования включают преобразующую технологию химически ортогонального направленного конструирования (PEG ReCODE), при которой химически определенные боковые цепи включаются в состав биосинтетических белков посредством преобразующей системы, которая содержит тРНК-синтетазу и тРНК. Данная технология позволяет включать более чем 30 новых аминокислот в состав биосинтетических белков в клетках E. coli, дрожжей и млекопитающих. тРНК включает стандартную аминокислоту в любом месте, где расположен янтарный стоп-кодон, преобразовывая янтарный стоп-кодон в кодон, который сигнализирует о включении химически определенной аминокислоты.

Технология рекомбинантного пегилирования (rPEG) также может применяться для удлинения периода полужизни в сыворотке крови. Данная технология предусматривает генетическое слияние неструктурированного белкового хвоста из 300-600 аминокислот с существующим фармацевтическим белком. Поскольку кажущаяся молекулярная масса такой неструктурированной белковой цепи в приблизительно 15 раз превышает ее фактическую молекулярную массу, период полужизни белка в сыворотке крови значительно увеличивается. В отличие от традиционного пегилирования, для которого требуется химическое конъюгирование и повторная очистка, способ изготовления значительно упрощается, и продукт является однородным.

Полисиалирование представляет собой другую технологию, в которой используется природный полимер полисиаловая кислота (PSA) для продления периода активности и улучшения стабильности терапевтических пептидов и белков. PSA представляет собой полимер сиаловой кислоты (сахара). При применении для доставки лекарственных средств на основе белков и терапевтических пептидов полисиаловая кислота обеспечивает защитную микросреду при конъюгировании. Это увеличивает период активности терапевтического белка в кровотоке и предотвращает его распознавание иммунной системой. Полимер PSA в естественных условиях обнаруживается в организме человека. Его начали использовать некоторые бактерии, которые эволюционировали на протяжении миллионов лет, для покрытия им своих клеточных стенок. Эти полисиалированные в естественных условиях бактерии вследствие этого были способны благодаря молекулярной мимикрии противодействовать защитной системе организма. PSA можно с легкостью получить из таких бактерий в больших количествах и с заданными физическими характеристиками. Бактериальная PSA является полностью неиммуногенной, даже в случае, когда она связана с белками, так как она является химически идентичной PSA в организме человека.

Другая технология предусматривает применение производных гидроксиэтилкрахмала ("HES"), связанных с антителами. HES представляет собой модифицированный природный полимер, полученный из крахмала восковидной кукурузы, и может метаболизироваться посредством ферментов организма. Растворы HES обычно вводят для восполнения недостающего объема крови и улучшения реологических свойств крови. Модификация антитела с помощью HES позволяет продлить период полужизни в кровотоке благодаря увеличению стабильности молекулы, а также благодаря снижению почечного клиренса, что приводит к увеличению биологической активности. Изменяя различные параметры, такие как молекулярная масса HES, можно адаптировать к конкретным требованиям широкий спектр конъюгатов HES-антитело.

Антитела, характеризующиеся увеличенным периодом полужизни in vivo, также можно получать путем введения одной или нескольких аминокислотных модификаций (т. е. замен, вставок или делеций) в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно Fc или фрагмент домена шарнирная область-Fc). См., например, международную публикацию № WO 98/23289; международную публикацию № WO 97/34631 и патент США № 6277375.

Кроме того, антитела можно конъюгировать с альбумином, чтобы сделать антитело или фрагмент антитела более стабильными in vivo или чтобы они характеризовались более длительным периодом полужизни in vivo. Методики являются хорошо известными из уровня техники, см., например, международные публикации №№ WO 93/15199, WO 93/15200 и WO 01/77137 и европейский патент № EP 413622.

Стратегии по увеличению периода полужизни являются особенно применимыми для нанотел, связывающих средств на основе фибронектина и других антител или белков, для которых необходим увеличенный период полужизни in vivo.

Конъюгаты антител

В настоящем изобретении предусмотрены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связываются с внеклеточным доменом ENTPD2 (например, белка ENTPD2 человека), рекомбинантно слитые или химически конъюгированные (в том числе посредством как ковалентного, так и нековалентного конъюгирования) с гетерологичным белком или полипептидом (или его антигенсвязывающим фрагментом, предпочтительно с полипептидом размером по меньшей мере 10, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100 аминокислот) с получением слитых белков. В частности, в настоящем изобретении предусмотрены слитые белки, содержащие антигенсвязывающий фрагмент антитела, описанного в данном документе (например, Fab-фрагмент, Fd-фрагмент, Fv-фрагмент, $F(ab)_2$-фрагмент, VH-домен, CDR VH, VL-домен или CDR VL) и гетерологичный белок, полипептид или пептид. Способы слияния или конъюгирования белков, полипептидов или пептидов с антителом или фрагментом антитела известны из уровня техники. См., например, патенты США №№ 5336603, 5622929, 5359046, 5349053, 5447851 и 5112946; европейские патенты №№ EP 307434 и EP 367166; международные публикации №№ WO 96/04388 и WO 91/06570; Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10535-10539; Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154:5590-5600; и Vil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341.

Дополнительные слитые белки можно получать посредством методик перетасовки генов, перетасовки мотивов, перетасовки экзонов и/или перетасовки кодонов (в совокупности называемых "перетасовкой ДНК"). Перетасовку ДНК можно использовать для изменения форм активности антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению (например, для получения антител и их антигенсвязывающих фрагментов с более высокими значениями аффинности и более низкими значениями скорости диссоциации). См. в целом патенты США №№ 5605793, 5811238, 5830721, 5834252 и 5837458; Patten et al., 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson, et al., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; и Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-313. Антитела и их антигенсвязывающие фрагменты или кодируемые антитела и их антигенсвязывающие фрагменты можно изменять посредством воздействия на них случайного мутагенеза с помощью ПЦР с внесением ошибок, случайной вставки нуклеотидов или других способов перед рекомбинацией. Полинуклеотид, кодирующий антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связываются с ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека), может быть подвергнут рекомбинации с одним или несколькими компонентами, мотивами, секциями, частями, доменами, фрагментами и т. д. одной или нескольких гетерологичных молекул.

Более того, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты можно слить с маркерными последовательностями, такими как пептид, для облегчения очистки. В одном варианте осуществления маркерная аминокислотная последовательность представляет

собой гексагистидиновый пептид (SEQ ID NO: 1010), такой как метка, представленная в векторе pQE (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Чатсворт, Калифорния, 91311), среди прочих, многие из которых являются коммерчески доступными. Например, как описано в Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824, гексагистидин (SEQ ID NO: 1010) обеспечивает удобную очистку слитого белка. Другие пептидные метки, применимые для очистки, включают без ограничения гемагглютининовую ("HA") метку, которая соответствует эпитопу, полученному из белка гемагглютинина вируса гриппа (Wilson et al., 1984, Cell 37:767), и "FLAG"-метку.

В одном варианте осуществления антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению конъюгированы с диагностическим или выявляемым средством. Такие антитела могут быть применимыми для контроля или прогнозирования начала проявления, развития, прогрессирования и/или степени тяжести заболевания или нарушения в рамках процедуры клинического тестирования, такой как определение эффективности конкретной терапии. Такую диагностику и выявление можно осуществлять посредством связывания антитела с выявляемыми веществами, в том числе без ограничения с различными ферментами, такими как без ограничения пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза или ацетилхолинэстераза; простетическими группами, такими как без ограничения стрептавидин/биотин и авидин/биотин; флуоресцентными материалами, такими как без ограничения умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламинофлуоресценин, дансилхлорид или фикоэритрин; люминесцентными материалами, такими как без ограничения люминол; биолюминесцентными материалами, такими как без ограничения люцифераза, люциферин и экворин; радиоактивными материалами, такими как без ограничения йод (131I, 125I, 123I и 121I), углерод (14C), сера (35S), тритий (3H), индий (115In, 113In, 112In и 111In), технеций (99Tc), таллий (201Ti), галлий (68Ga, 67Ga), палладий (103Pd), молибден (99Mo), ксенон (133Xe), фтор (18F), 153Sm, 177Lu, 159Gd, 149Pm, 140La, 175Yb, 166Ho, 90Y, 47Sc, 186Re, 188Re, 142Pr, 105Rh, 97Ru, 68Ge, 57Co, 65Zn, 85Sr, 32P, 153Gd, 169Yb, 51Cr, 54Mn, 75Se, 113Sn и олово-117; и позитронно-активными металлами, применяющимися в различных методах позитронно-эмиссионной томографии, а также ионами нерадиоактивных парамагнитных металлов.

Кроме того, антитело, его антигенсвязывающий фрагмент могут быть конъюгированы с терапевтическим компонентом или компонентом, представляющим собой лекарственное средство. Терапевтические компоненты или компоненты, представляющие собой лекарственные средства, не следует рассматривать как ограниченные классическими химическими терапевтическими средствами. Например, компонент, представляющий собой лекарственное средство, может представлять собой белок, пептид или полипептид, обладающие необходимой биологической активностью. Такие белки могут включать, например, токсин, такой как абрин, рицин A, экзотоксин синегнойной палочки, холерный токсин или дифтерийный токсин; белок, такой как

фактор некроза опухоли, интерферон альфа, интерферон бета, фактор роста нервов, фактор роста тромбоцитов, тканевой активатор плазминогена, проапоптотическое средство, антиангиогенное средство или модификатор биологического ответа, такой как, например, лимфокин.

Более того, антитело можно конъюгировать с терапевтическими компонентами, такими как ион радиоактивного металла, как, например, излучатель альфа-частиц, такой как 213Bi, или с макроциклическими хелаторами, применимыми для конъюгирования ионов радиоактивных металлов, в том числе без ограничения 131In, 131Lu, 131Y, 131Ho, 131Sm, с полипептидами. В одном варианте осуществления макроциклический хелатор представляет собой 1,4,7,10-тетраазациклододекан-N, N',N",N'"-тетрауксусную кислоту (DOTA), которая может быть присоединена к антителу посредством линкерной молекулы. Такие линкерные молекулы являются широко известными из уровня техники и описаны в Denardo et al., 1998, Clin Cancer Res. 4 (10):2483-90; Peterson et al., 1999, Bioconjug. Chem. 10 (4):553-7; и Zimmerman et al., 1999, Nucl. Med. Biol. 26 (8):943-50, каждая из которых включена посредством ссылки во всей своей полноте.

Методики конъюгирования терапевтических компонентов с антителами являются хорошо известными, см., например, Amon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", в Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", в Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", в Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", в Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), и Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58.

Антитела также могут быть прикреплены к твердым подложкам, которые являются особенно применимыми для иммунологических анализов или очистки антигена-мишени. Такие твердые подложки включают без ограничения стекло, целлюлозу, полиакриламид, нейлон, полистирол, поливинилхлорид или полипропилен.

Нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела, векторы и клетки-хозяева

Также в данном документе предусмотрены нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать полипептиды, содержащие сегменты или домены антител к ENTPD2 или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных выше. Такие нуклеиновые кислоты или полинуклеотиды могут кодировать по меньшей мере одну CDR-область и обычно все три CDR-области из тяжелой или легкой цепи антител к ENTPD2, описанных в данном документе. Такие нуклеиновые кислоты или полинуклеотиды также могут кодировать всю или по существу всю последовательность вариабельной области тяжелой цепи и/или легкой цепи антител к ENTPD2, описанных в

данном документе. Такие нуклеиновые кислоты или полинуклеотиды также могут кодировать как вариабельную область, так и константную область антитела. Вследствие вырожденности генетического кода каждая из аминокислотных последовательностей иммуноглобулинов будет кодироваться рядом последовательностей нуклеиновых кислот. Например, настоящее изобретение относится к первой и второй нуклеиновым кислотам, кодирующим соответственно вариабельные области тяжелой и легкой цепей молекулы антитела к ENTPD2 человека, выбранной из одной или нескольких молекул антител, раскрытых в данном документе. Нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, представленную в таблице 1, или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности по отношению к ней или которая отличается на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, показанных в таблице 1).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, представленную в таблице 1, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности по отношению к ней и/или которая имеет одну или несколько замен, например, консервативных замен). В других вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, представленную в таблице 1, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности по отношению к ней и/или которая имеет одну или несколько замен, например, консервативных замен). В еще одном другом варианте осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR или гипервариабельных петель из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную последовательность, представленную в таблице 1, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности по отношению к ней и/или которая имеет одну или несколько замен, например, консервативных замен).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области тяжелой цепи, имеющую нуклеотидную последовательность, представленную в таблице 1, или последовательность,

по существу гомологичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности по отношению к ней). В другом варианте осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области легкой цепи, имеющую нуклеотидную последовательность, представленную в таблице 1, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности по отношению к ней). В еще одном варианте осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR или гипервариабельных петель из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей, имеющую нуклеотидную последовательность, представленную в таблице 1, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности по отношению к ней).

Полинуклеотидные последовательности можно получать с помощью твердофазного синтеза ДНК de novo или с помощью ПЦР-мутагенеза существующей последовательности, кодирующей ENTPD2-связывающее антитело или его связывающий фрагмент. Прямой химический синтез нуклеиновых кислот можно осуществлять с помощью способов, известных из уровня техники, таких как фосфотриэфирный способ из Narang et al., 1979, Meth. Enzymol. 68:90; фосфодиэфирный способ из Brown et al., Meth. Enzymol. 68:109, 1979; диэтилфосфорамидитный способ из Beaucage et al., Tetra Lett., 22:1859, 1981; и способ с использованием твердой подложки из патента США № 4458066. Введение мутаций в полинуклеотидную последовательность с помощью ПЦР можно осуществлять, как описано, например, в PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H. A. Erlich (Ed.), Freeman Press, NY, N.Y., 1992; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis et al. (Ed.), Academic Press, San Diego, Calif., 1990; Mattila et al., Nucleic Acids Res. 19:967, 1991; и Eckert et al., PCR Methods and Applications 1:17, 1991.

Также в данном документе предусмотрены векторы (например, векторы экспрессии), содержащие нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид, содержащий сегмент или домен антител к ENTPD2 или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном документе. Такие векторы можно использовать для экспрессии и/или получения ENTPD2-связывающих антител или их антигенсвязывающих фрагментов. Термин "вектор экспрессии" относится к молекуле нуклеиновой кислоты-переносчика, в которую может быть вставлена необходимая кодирующая последовательность для введения в клетку, где она может экспрессироваться. Вектор может представлять собой ДНК-вектор, РНК-вектор, плазмиду, космиду, или вирусный вектор, или искусственные хромосомы (см., например, Harrington et al., Nat Genet 15:345, 1997). Например,

невирусные векторы, применимые для экспрессии ENTPD2-связывающих антител или их антигенсвязывающих фрагментов в клетках млекопитающих (например, человека), включают pThioHis A, B и C, pcDNA3.1/His, pEBVHis A, B и C (Invitrogen, Сан-Диего, Калифорния), векторы на основе MPSV и многочисленные другие векторы, известные из уровня техники, для экспрессии белков. Например, в одном классе векторов используются ДНК-элементы, которые получены из вирусов животных, таких как, например, вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус полиомы, аденовирус, вирус осповакцины, бакуловирус, ретровирусы (вирус саркомы Рауса, MMTV или MOMLV) или вирус SV40. В другом классе векторов используются РНК-элементы, полученные из РНК-содержащих вирусов, таких как вирус леса Семлики, вирус восточного энцефалита лошадей и флавивирусы.

Применимые вирусные векторы включают векторы на основе любых из следующих вирусов: ретровирусов, лентивирусов, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, вирусов герпеса (например, вируса простого герпеса (HSV)), векторов на основе SV40, вируса папилломы, вируса Эпштейна-Барр HBP, вируса осповакцины, вируса Синдбис, вируса гриппа, реовируса, вируса ньюкаслской болезни (NDV), вируса кори, вируса везикулярного стоматита (VSV), парвовируса, полиовируса, поксвируса, вируса Сенека-Валли, вируса Коксаки, энтеровируса, вируса миксомы, вируса Мараба или вируса леса Семлики (SFV). См. Brent et al., выше; Smith, Annu. Rev. Microbiol. 49:807, 1995; и Rosenfeld et al., Cell 68:143, 1992.

В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой лентивирусный вектор. Векторы, полученные из ретровирусов, таких как лентивирус, являются подходящими инструментами для осуществления долговременного переноса генов, поскольку они обеспечивают долговременную стабильную интеграцию трансгена и его размножение в дочерних клетках. Лентивирусные векторы обладают дополнительным преимуществом по сравнению с векторами, полученными из онкоретровирусов, таких как вирусы лейкоза мышей, заключающимся в том, что ими можно трансдуцировать непролиферирующие клетки, такие как гепатоциты. Они также обладают дополнительным преимуществом, заключающимся в низкой иммуногенности. Ретровирусный вектор также может представлять собой, например, гамма-ретровирусный вектор. Гамма-ретровирусный вектор может содержать, например, промотор, сигнал упаковки (ψ), сайт связывания праймера (PBS), один или несколько (например, два) длинных концевых повторов (LTR) и трансген, представляющий интерес, например, ген, кодирующий CAR. В гамма-ретровирусном векторе могут отсутствовать структурные гены вирусов, такие как gag, pol и env. Иллюстративные гамма-ретровирусные векторы включают вирус лейкоза мышей (MLV), вирус некроза селезенки (SFFV) и вирус миелопролиферативной саркомы (MPSV), а также векторы, полученные из них. Другие гамма-ретровирусные векторы описаны, например, в Tobias Maetzig et al., "Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application" Viruses. 2011 Jun; 3(6): 677-713.

В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вектор на основе

аденоассоциированного вируса (AAV), например, вектор на основе рекомбинантного AAV (rAAV). "AAV" представляет собой аббревиатуру для аденоассоциированного вируса и может применяться в отношении самого вируса или его производных. Термин охватывает все подтипы как встречающихся в природе, так и рекомбинантных форм, за исключением случаев, когда требуется иное. Аббревиатура "rAAV" относится к рекомбинантному аденоассоциированному вирусу, также называемому вектором на основе рекомбинантного AAV (или "вектором на основе rAAV"). Термин "AAV" включает, например, AAV 1 типа (AAV1), AAV 2 типа (AAV2), AAV 3 типа (AAV3), AAV 4 типа (AAV4), AAV 5 типа (AAV5), AAV 6 типа (AAV6), AAV 7 типа (AAV7), AAV 8 типа (AAV8), AAV 9 типа (AAV9), AAV 10 типа (AAV10, в том числе AAVrh10), AAV 12 типа (AAV12), AAV птиц, AAV крупного рогатого скота, AAV собак, AAV лошадей, AAV приматов, AAV млекопитающих, отличных от приматов, и AAV овец. "AAV приматов" относится к AAV, который инфицирует приматов, "AAV млекопитающих, отличных от приматов" относится к AAV, который инфицирует млекопитающих, отличных от приматов, "AAV крупного рогатого скота" относится к AAV, который инфицирует млекопитающих, относящихся к крупному рогатому скоту, и т. д.

Геномные последовательности различных серотипов AAV, а также последовательности нативных инвертированных концевых повторов (ITR), белков Rep и субъединиц капсида известны из уровня техники. Такие последовательности можно найти в литературе или в общедоступных базах данных, таких как GenBank. См., например, №№ доступа в GenBank NC-002077 (AAV1), AF063497 (AAV1), NC-001401 (AAV2), AF043303 (AAV2), NC-001729 (AAV3), NC-001829 (AAV4), U89790 (AAV4), NC-006152 (AAV5), AF513851 (AAV7), AF513852 (AAV8) и NC-006261 (AAV8) или в публикациях, таких как WO2005033321 (AAV1-9), раскрытия которых включены в данный документ посредством ссылки. См. также, например, Srivastava et al. (1983) J. Virology 45:555; Chiorini et al. (1998) J. Virology 71:6823; Chiorini et al. (1999) J. Virology 73: 1309; Bantel-Schaal et al. (1999) J. Virology 73:939; Xiao et al. (1999) J. Virology 73:3994; Muramatsu et al. (1996) Virology 221:208; Shade et al. (1986) J. Virol. 58:921; Gao et al. (2002) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 99: 11854; Moris et al. (2004) Virology 33:375-383; публикации международных заявок на патент WO 00/28061, WO 99/61601, WO 98/11244 и патент США № 6156303.

Используемый в данном документе термин "вектор на основе rAAV" относится к вектору на основе AAV, содержащему полинуклеотидную последовательность, происходящую не от AAV (т. е. полинуклеотид, гетерологичный по отношению к AAV), как правило, последовательность, представляющую интерес для генетической трансформации клетки. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид может быть фланкирован по меньшей мере одной и иногда двумя последовательностями инвертированных концевых повторов (ITR) AAV. Термин "вектор на основе rAAV" охватывает как векторные частицы на основе rAAV, так и векторные плазмиды на основе rAAV. Вектор на основе rAAV может быть однонитевым (ssAAV) либо самокомплементарным (scAAV). "Вирус AAV", или "вирусная частица AAV", или

"векторная частица на основе rAAV" относится к вирусной частице, состоящей из по меньшей мере одного капсидного белка AAV (как правило, из всех капсидных белков AAV дикого типа) и заключенного в капсид полинуклеотидного вектора на основе rAAV. Если частица содержит гетерологичный полинуклеотид (т. е. полинуклеотид, отличный от генома AAV дикого типа, такой как трансген, который должен быть доставлен в клетку млекопитающего), она, как правило, называется "векторной частицей на основе rAAV" или просто "вектором на основе rAAV". Таким образом, получение частицы rAAV обязательно включает получение вектора на основе rAAV, такого как вектор, содержащийся в частице rAAV.

В некоторых вариантах осуществления вектор может представлять собой рекомбинантную молекулу ДНК, содержащую нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, которое связывается с белком ENTPD2 человека. Используемый в данном документе термин "рекомбинантный" означает, что вектор, полинуклеотид, полипептид или клетка представляют собой продукт различных комбинаций стадий клонирования, рестрикции или лигирования (например, в отношении полинуклеотида или полипептида, содержащегося в них) и/или других процедур, которые приводят к получению конструкции, отличающейся от продукта, обнаруживаемого в природе. Рекомбинантный вирус или вектор представляет собой вирусную частицу, содержащую рекомбинантный полинуклеотид. Данные термины соответственно включают продукты репликации исходной полинуклеотидной конструкции и дочерние продукты исходной вирусной конструкции.

Рекомбинантный вектор, как правило, содержит одну или несколько регуляторных последовательностей, функционально связанных с последовательностью нуклеиновой кислоты, которая должна экспрессироваться. Термин "регуляторная последовательность" включает промоторы, энхансеры и другие элементы, контролирующие экспрессию (например, сигналы полиаденилирования). Регуляторные последовательности включают последовательности, которые управляют конститутивной экспрессией нуклеотидной последовательности, а также тканеспецифичные регуляторные и/или индуцируемые последовательности. Векторы экспрессии могут также содержать элементы, предназначенные для оптимизации стабильности матричной РНК и ее способности к трансляции в клетках-хозяевах, и/или маркеры для отбора по чувствительности к лекарственному средству для создания постоянных стабильных клеточных клонов, экспрессирующих антитело, которое связывается с белком ENTPD2 человека. Конструкция вектора экспрессии может зависеть от таких факторов, как выбор клетки-хозяина, которая должна быть трансформирована, необходимый уровень экспрессии белка и т. п. Общие способы создания таких рекомбинантных векторов экспрессии можно найти в Sambrook and Russell eds. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition; сериях Ausubel et al. eds. (2007 г., с дополнениями и исправлениями до 2010 г.) Current Protocols in Molecular Biology, среди других, известных из уровня техники.

"Промотор" представляет собой контролирующую последовательность, которая

представляет собой область последовательности нуклеиновой кислоты, с помощью которой контролируются инициация и скорость транскрипции. Он может содержать генетические элементы, с которыми могут связываться регуляторные белки и молекулы, такие как РНК-полимераза, и другие факторы транскрипции. Фразы "функционально расположенный", "функционально связанный", "под контролем" и "под транскрипционным контролем" означают, что промотор находится в надлежащих функциональных местоположении и/или ориентации по отношению к последовательности нуклеиновой кислоты для контроля инициации транскрипции и/или экспрессии этой последовательности. Промотор можно использовать или не использовать в сочетании с "энхансером", который относится к цис-действующей регуляторной последовательности, участвующей в активации транскрипции последовательности нуклеиновой кислоты.

Промотор может быть естественным образом связан с геном или последовательностью, а также может быть получен посредством выделения 5'-некодирующих последовательностей, расположенных выше кодирующего сегмента и/или экзона. Такой промотор может называться "эндогенным". Аналогичным образом, энхансер может быть естественным образом связан с последовательностью нуклеиновой кислоты и быть расположенным ниже или выше данной последовательности. В качестве альтернативы, определенные преимущества будут достигнуты посредством расположения кодирующего сегмента нуклеиновой кислоты под контролем рекомбинантного или гетерологичного промотора, который относится к промотору, обычно не связанному с последовательностью нуклеиновой кислоты в своей естественной среде. Рекомбинантный или гетерологичный энхансер также относится к энхансеру, обычно не связанному с последовательностью нуклеиновой кислоты в своей естественной среде. Такие промоторы или энхансеры могут включать промоторы или энхансеры из других генов, а также промоторы или энхансеры, выделенные из любой другой прокариотической клетки, вируса или эукариотической клетки, и промоторы или энхансеры, "не встречающиеся в природе", т. е. содержащие другие элементы других областей регуляции транскрипции и/или мутации, которые изменяют экспрессию. В дополнение к получению последовательностей нуклеиновых кислот промоторов и энхансеров синтетическим путем, последовательности можно получать с помощью технологии рекомбинантного клонирования и/или амплификации нуклеиновых кислот, например, ПЦР, совместно с композициями, раскрытыми в данном документе (см. US 4683202, US 5928906). Кроме того, предусматривается, что также можно использовать контролирующие последовательности, которые управляют транскрипцией и/или экспрессией последовательностей в неядерных органеллах, таких как митохондрии, хлоропласты и т. п.

Используемые промоторы могут быть конститутивными, индуцируемыми, синтетическими, ткане- или клеточноспецифичными и/или применимыми в подходящих условиях для управления экспрессией введенного сегмента ДНК на высоком уровне, что является преимущественным при крупномасштабном получении рекомбинантных белков

и/или пептидов. Кроме того, также могут быть включены другие регуляторные элементы для улучшения экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, которое связывается с белком ENTPD2 человека, например, энхансеры, сайт связывания рибосомы, последовательности терминации транскрипции и т. п.

В некоторых вариантах осуществления используется конститутивный промотор для обеспечения постоянной экспрессии антитела к ENTPD2 человека. Примеры конститутивного промотора включают без ограничения немедленно-ранний промотор цитомегаловируса (CMV), ранний промотор вируса обезьян 40 (SV40), промотор вируса опухоли молочной железы мышей (MMTV), промотор длинного концевого повтора (LTR) вируса иммунодефицита человека (HIV), промотор MoMuLV, промотор вируса лейкоза птиц, немедленно-ранний промотор вируса Эпштейна-Барр, промотор вируса саркомы Рауса, а также промоторы человеческих генов, такие как без ограничения промотор гена актина, промотор гена миозина, промотор гена фактора элонгации 1α, промотор гена гемоглобина и промотор гена креатинкиназы.

Индуцируемые промоторы также предусматриваются как часть настоящего изобретения. Использование индуцируемого промотора обеспечивает наличие молекулярного переключателя, способного включать экспрессию полинуклеотидной последовательности, с которой он функционально связан, если такая экспрессия требуется, или отключать экспрессию, если экспрессия не требуется. Примеры индуцируемых промоторов включают без ограничения металлотионеин-индуцируемый промотор, глюкокортикоид-индуцируемый промотор, прогестерон-индуцируемый промотор и тетрациклин-индуцируемый промотор.

В некоторых вариантах осуществления используется ткане- или клеточноспецифичный промотор для обеспечения экспрессии антитела к ENTPD2 человека только в конкретных тканях или клетках. Характерные особенности ткане- или клеточноспецифичных промоторов или элементов, а также анализы для определения характеристик их форм активности хорошо известны специалистам в данной области. Примеры включают промотор гена LIMK2 человека (Nomoto et al. 1999, Gene, 236(2):259-271), гена рецептора соматостатина 2 типа (Kraus et al., 1998, FEES Lett., 428(3): 165-170), гена эпидидимального белка, связывающего ретиноевую кислоту, мыши (Lareyre et al., 1999, J. Biol. Chem., 274(12):8282-8290), гена CD4 человека (Zhao-Emonet et al., 1998, Biochim. Biophys. Acta, 1442(2-3): 109-119), гена альфа-2-цепи коллагена (XI типа) мыши (Tsumaki, et al., 1998, J. Biol. Chem., 273(36):22861-22864), гена дофаминового рецептора D1A (Lee, et al., 1997, J. Auton. Nerv. Syst., 74(2-3):86-90), гена инсулиноподобного фактора роста II (Wu et al., 1997, Biochem. Biophys. Res. Commun., 233(1):221-226), гена тромбоцитарно-эндотелиальной молекулы 1 клеточной адгезии человека (Almendro et al., 1996, J. Immunol., 157(12):5411-5421), гена мышечной креатинкиназы (MCK) (Wang et al., Gene Ther. 2008 Nov;15(22):1489-99).

В некоторых вариантах осуществления используется синтетический промотор для обеспечения экспрессии антитела к ENTPD2 человека. Синтетические промоторы могут

значительно превосходить природные промоторы по активности транскрипции. Например, можно выбрать синтетические промоторы, активность которых не отключается или не снижается под действием эндогенных клеточных механизмов или факторов. Другие элементы, в том числе сайты связывания транс-действующих факторов и энхансеры, могут быть вставлены в синтетический промотор для улучшения эффективности транскрипции. Синтетические промоторы можно рационально разработать и синтезировать химическим путем с объединением лучших признаков как синтетических, так и биологических промоторов. Синтетические олигонуклеотиды отжигают и лигируют посредством нескольких способов для создания полноразмерного химически синтезированного промотора. Синтетические промоторы могут представлять собой индуцируемые промоторы или промоторы, специфичные для типа клеток.

Для эффективной трансляции кодирующих последовательностей также может требоваться специфический сигнал инициации. Такие сигналы включают инициирующий кодон ATG или смежные последовательности. Может быть необходимым обеспечение наличия экзогенных сигналов контроля трансляции, в том числе инициирующего кодона ATG. Специалист обычной квалификации в данной области легко сможет определить это и обеспечить наличие необходимых сигналов. Хорошо известно, что инициирующий кодон должен быть "внутрирамочным" по отношению к рамке считывания необходимой кодирующей последовательности для обеспечения трансляции всей вставки. Экзогенные сигналы контроля трансляции и инициирующие кодоны могут быть природными либо синтетическими. Эффективность экспрессии можно усилить посредством включения подходящих элементов, представляющих собой энхансеры транскрипции.

Для экспрессии можно использовать любые подходящие клетки-хозяева, известные из уровня техники, например, клетки-хозяева, являющиеся клетками млекопитающих, бактериальные клетки-хозяева, дрожжевые клетки-хозяева, клетки-хозяева, являющиеся клетками насекомых, и т. д. Как прокариотические, так и эукариотические системы экспрессии являются широко доступными. В некоторых вариантах осуществления система экспрессии представляет собой систему экспрессии в клетках млекопитающих, такую как система экспрессии в клетках CHO. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может быть кодон-оптимизированной для облегчения экспрессии в необходимой клетке-хозяине. Будет важно использовать промотор и/или энхансер, который эффективно управляет экспрессией сегмента ДНК в типе клеток, органелле и организме, выбранных для экспрессии. Специалисты в области молекулярной биологии обычно знают об использовании комбинаций промоторов, энхансеров и типов клеток для экспрессии белков, например, см. Sambrook et al. (2001).

Большинство транскрибируемых эукариотических молекул РНК будут подвергаться сплайсингу РНК для удаления интронов из первичных транскриптов. При использовании векторов, содержащих геномные эукариотические последовательности, могут требоваться донорные и/или акцепторные сайты сплайсинга для обеспечения надлежащего процессинга транскрипта для экспрессии белка (см. Chandler et al., 1997,

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94(8):3596-601).

Векторы или конструкции по настоящему изобретению обычно будут содержать по меньшей мере один сигнал терминации. "Сигнал терминации" или "терминатор" состоит из последовательностей ДНК, участвующих в специфической терминации РНК-транскрипта РНК-полимеразой. Таким образом, в определенных вариантах осуществления предусматривается сигнал терминации, который завершает продуцирование РНК-транскрипта. Терминатор может быть необходим in vivo для достижения необходимых уровней первичного транскрипта. В эукариотических системах терминаторная область может также содержать специфические последовательности ДНК, которые позволяют осуществлять сайт-специфическое расщепление нового транскрипта таким образом, чтобы сделать доступным сайт полиаденилирования. Данные сигналы необходимы специализированной эндогенной полимеразе для добавления фрагмента из приблизительно 200 остатков А (поли-А) к 3'-концу транскрипта. Молекулы РНК, модифицированные с помощью данного поли-А-хвоста, по-видимому, являются более стабильными и транслируются более эффективно. Таким образом, в других вариантах осуществления, предусматривающих эукариот, предпочтительно, чтобы терминатор содержал сигнал для расщепления РНК, и более предпочтительно, чтобы сигнал терминатора способствовал полиаденилированию первичного транскрипта. Элементы терминатора и/или сайта полиаденилирования могут служить для повышения уровней первичного транскрипта и/или для сведения к минимуму сквозного прочитывания с переходом от кассеты к другим последовательностям. Терминаторы, предусмотренные для применения в настоящем изобретении, включают любой известный терминатор транскрипции, описанный в данном документе или известный специалисту обычной квалификации в данной области, в том числе без ограничения, например, терминирующие последовательности генов, такие как, например, терминатор гена гормона роста крупного рогатого скота или вирусные терминирующие последовательности, такие как, например, терминатор SV40. В определенных вариантах осуществления сигналом терминации может являться отсутствие транскрибируемой или транслируемой последовательности, например, вследствие усечения последовательности.

При экспрессии, в частности при эукариотической экспрессии, как правило, будет включен сигнал полиаденилирования для осуществления надлежащего полиаденилирования транскрипта. Считается, что природа сигнала полиаденилирования не имеет решающего значения для успешного осуществления настоящего изобретения на практике, и/или можно использовать любую такую последовательность. Предпочтительные варианты осуществления включают сигнал полиаденилирования SV40 и/или сигнал полиаденилирования гена гормона роста крупного рогатого скота, удобные и/или известные как хорошо функционирующие в различных клетках-мишенях. Полиаденилирование может увеличивать стабильность транскрипта или может облегчать цитоплазматический транспорт.

Для размножения вектора в клетке-хозяине он может содержать одну или

несколько точек начала репликации (часто называемых "ori"), которые представляют собой специфическую последовательность нуклеиновой кислоты, в которой инициируется репликация. В качестве альтернативы можно использовать автономно реплицирующуюся последовательность (ARS), если клетка-хозяин представляет собой дрожжевую клетку.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения клетки, содержащие конструкцию нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, можно идентифицировать in vitro или in vivo посредством включения маркера в вектор экспрессии. Такие маркеры будут придавать клетке идентифицируемое изменение, позволяющее легко идентифицировать клетки, содержащие вектор экспрессии. Обычно селектируемый маркер представляет собой маркер, который придает свойство, которое обеспечивает возможность отбора. Положительный селектируемый маркер представляет собой такой маркер, при котором наличие маркера обеспечивает возможность его отбора, тогда как отрицательный селектируемый маркер представляет собой такой маркер, при котором его наличие предотвращает его отбор. Пример положительного селектируемого маркера представляет собой маркер устойчивости к лекарственному средству.

Обычно включение селектируемого маркера для отбора по чувствительности к лекарственному средству способствует клонированию и идентификации трансформантов, например, гены, которые придают устойчивость к неомицину, пуромицину, гигромицину, DHFR, GPT, зеоцину и гистидинолу, являются применимыми селектируемыми маркерами. В дополнение к маркерам, придающим фенотип, который обеспечивает возможность установления различий между трансформантами на основе реализации условий, также предусматриваются другие типы маркеров, в том числе маркеры для скрининга, такие как GFP, применение которых основано на колориметрическом анализе. В качестве альтернативы можно использовать ферменты для скрининга, такие как тимидинкиназа вируса простого герпеса (HSV-tk) или хлорамфениколацетилтрансфераза (CAT). Специалист в данной области также будет знать, как использовать иммунологические маркеры, возможно в сочетании с FACS-анализом. Считается, что используемый маркер не важен при условии, что он способен экспрессироваться одновременно с нуклеиновой кислотой, кодирующей продукт гена. Дополнительные примеры селектируемых маркеров и маркеров для скрининга хорошо известны специалисту в данной области.

В векторах экспрессии также может быть предусмотрено положение последовательности сигнала секреции для образования слитого белка с полипептидами, кодируемыми вставленными последовательностями ENTPD2-связывающего антитела. Вставляемые последовательности ENTPD2-связывающего антитела чаще связывают с сигнальными последовательностями до включения в вектор. Векторы, которые должны использоваться для получения последовательностей, кодирующих вариабельные домены легкой и тяжелой цепей ENTPD2-связывающего антитела, иногда также кодируют константные области или их части. Такие векторы обеспечивают возможность экспрессии вариабельных областей в виде слитых белков с константными областями, что таким образом приводит к продуцированию интактных антител и их антигенсвязывающих

фрагментов. Как правило, такие константные области являются человеческими.

При создании вектора экспрессии можно использовать вектор, содержащий сайт множественного клонирования (MCS), который представляет собой область нуклеиновой кислоты, содержащую несколько сайтов для рестрикционных ферментов, любой из которых можно использовать в сочетании со стандартной рекомбинантной технологией для расщепления вектора. См. Carbonelli et al., 1999, Levenson et al., 1998, и Cocea, 1997. "Расщепление рестрикционным ферментом" относится к каталитическому расщеплению молекулы нуклеиновой кислоты с помощью фермента, который функционирует только в конкретных местоположениях молекулы нуклеиновой кислоты. Множество таких рестрикционных ферментов являются коммерчески доступными. Применение таких ферментов широко известно специалистам в данной области. Часто вектор линеаризуют или фрагментируют с помощью рестрикционного фермента, который производит разрез в пределах MCS, для обеспечения лигирования экзогенных последовательностей с вектором. "Лигирование" относится к способу образования фосфодиэфирных связей между двумя фрагментами нуклеиновой кислоты, которые могут быть или не быть смежными друг с другом. Методики, предусматривающие рестрикционные ферменты и реакции лигирования, хорошо известны специалистам в области рекомбинантной технологии.

Способы введения векторов экспрессии, содержащих полинуклеотидные последовательности, представляющие интерес, варьируются в зависимости от типа клетки-хозяина. Например, трансфекцию с использованием хлорида кальция обычно используют для прокариотических клеток, тогда как обработку фосфатом кальция или электропорацию можно применять для других клеток-хозяев (см. в общих чертах Sambrook et al., выше). Другие способы включают, например, электропорацию, обработку фосфатом кальция, трансформацию, опосредованную липосомами, инъекцию и микроинъекцию, баллистические способы/генную пушку, виросомы, иммунолипосомы, конъюгаты поликатион:нуклеиновая кислота, "голую" ДНК, искусственные вирионы, слияние со структурным белком VP22 вируса герпеса, усиленное средством поглощение ДНК, трансдукцию ex vivo, слияние протопластов, ретровирусную трансдукцию, вирусную трансфекцию, липидную трансфекцию или другие традиционные методики. В случае слияния протопластов клетки выращивают в среде и подвергают скринингу в отношении соответствующей активности. Для долговременного получения рекомбинантных белков с высоким выходом зачастую будет необходима стабильная экспрессия. Например, линии клеток, которые стабильно экспрессируют полипептиды, можно получать с помощью векторов экспрессии, которые содержат вирусные точки начала репликации или эндогенные экспрессионные элементы и ген селектируемого маркера. После введения вектора клеткам можно предоставлять возможность роста в течение 1-2 дней в обогащенной среде перед их переносом в селективную среду. Задачей селектируемого маркера является придание устойчивости к факторам отбора, и его присутствие обеспечивает возможность роста клеток, которые успешно экспрессируют

введенные последовательности, в селективной среде. Пролиферацию устойчивых стабильно трансфицированных клеток можно обеспечивать с применением методик культивирования тканей, соответствующих типу клеток. Способы и условия культивирования полученных в результате трансфицированных клеток и извлечения полученной молекулы антитела известны специалистам в данной области и могут быть изменены или оптимизированы в зависимости от конкретных используемых вектора экспрессии и клетки-хозяина, являющейся клеткой млекопитающего, исходя из настоящего описания.

Также в данном документе предусмотрены клетки, которые содержат любой из векторов экспрессии, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к клетке-хозяину, которая содержит молекулу нуклеиновой кислоты, описанную в данном документе. Такие клетки могут представлять собой клетку-хозяина или терапевтическую клетку. Термины "клетка-хозяин" и "рекомбинантная клетка-хозяин" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся не только к конкретной рассматриваемой клетке, но и к потомству или потенциальному потомству такой клетки. Поскольку в последующих поколениях могут происходить определенные модификации из-за мутаций либо из-за влияний окружающей среды, такое потомство может в действительности не быть идентичным родительской клетке, но по-прежнему включаться в объем термина, используемого в данном документе.

В одном варианте осуществления клетки-хозяева модифицированы методами генной инженерии таким образом, что они содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулу антитела. В одном варианте осуществления клетки-хозяева модифицированы методами генной инженерии путем применения кассеты экспрессии. Фраза "кассета экспрессии" относится к нуклеотидным последовательностям, которые способны осуществлять экспрессию гена у хозяев, совместимых с такими последовательностями. Такие кассеты могут содержать промотор, открытую рамку считывания с интронами или без них и сигнал терминации. Также можно применять дополнительные факторы, необходимые или полезные при осуществлении экспрессии, такие как, например, индуцируемый промотор.

Клетки-хозяева, которые должны нести и экспрессировать цепи ENTPD2-связывающего антитела, могут представлять собой без ограничения эукариотическую клетку или прокариотическую клетку, такую как бактериальная клетка, клетка насекомого или клетка человека. E. coli является одним прокариотическим хозяином, применимым для клонирования и экспрессии полинуклеотидов по настоящему изобретению. Другие подходящие для применения микробные хозяева включают бацилл, таких как Bacillus subtilis, и других энтеробактерий, таких как Salmonella, Serratia и различные виды Pseudomonas. Для этих прокариотических хозяев также можно создать векторы экспрессии, которые, как правило, содержат последовательности, контролирующие экспрессию, совместимые с клеткой-хозяином (например, точку начала репликации).

Кроме того, будет присутствовать любое количество разнообразных хорошо известных промоторов, как, например, лактозная промоторная система, триптофановая (trp) промоторная система, бета-лактамазная промоторная система или промоторная система из фага лямбда. Как правило, промоторы контролируют экспрессию, необязательно с помощью операторной последовательности, и имеют последовательности сайта связывания рибосомы и т. п. для инициации и завершения транскрипции и трансляции. Для экспрессии ENTPD2-связывающих полипептидов по настоящему изобретению также можно использовать другие микроорганизмы, такие как дрожжи. Также можно использовать клетки насекомых в комбинации с бакуловирусными векторами. Подходящие клетки насекомых включают без ограничения клетки Sf9.

В одном варианте осуществления клетки-хозяева, являющиеся клетками млекопитающих, используют для экспрессии и получения ENTPD2-связывающих антител по настоящему изобретению. Например, они могут представлять собой гибридомную линию клеток, экспрессирующих эндогенные гены иммуноглобулинов (например, клетку гибридомы из миеломы 1D6.C9), либо линию клеток млекопитающих, несущих экзогенный вектор экспрессии (например, клетку миеломы SP2/0). Они включают любую нормальную мортальную или нормальную или аномальную иммортальную клетку животного или человека. Например, был разработан ряд подходящих линий клеток-хозяев, способных секретировать интактные иммуноглобулины, в том числе линии клеток CHO, различные линии клеток Cos, клетки HeLa, линии клеток миеломы, трансформированные B-клетки и гибридомы. Применение тканевой культуры клеток млекопитающих для экспрессии полипептидов в общих чертах обсуждается, например, в Winnacker, From Genes to Clones, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987. Векторы экспрессии для клеток-хозяев, являющихся клетками млекопитающих, могут содержать последовательности, контролирующие экспрессию, такие как точка начала репликации, промотор и энхансер (см., например, Queen, et al., Immunol. Rev. 89:49-68, 1986), а также необходимые сайты процессинга информации, такие как сайты связывания рибосомы, сайты сплайсинга РНК, сайты полиаденилирования и последовательности терминаторов транскрипции. Эти векторы экспрессии обычно содержат промоторы, полученные из генов млекопитающих или из вирусов млекопитающих. Подходящие промоторы могут быть конститутивными, специфичными для типа клеток, специфичными для стадии развития и/или модулируемыми или регулируемыми. Применимые промоторы включают без ограничения промотор гена металлотионеина, конститутивный большой поздний промотор аденовируса, дексаметазон-индуцируемый промотор MMTV, промотор SV40, промотор pol III MRP, конститутивный промотор MPSV, тетрациклин-индуцируемый промотор CMV (такой как немедленно-ранний промотор CMV человека), конститутивный промотор CMV и комбинации промотор-энхансер, известные из уровня техники.

Клетка-хозяин может использоваться для получения или экспрессии антитела, которое связывается с белком ENTPD2 человека. Соответственно, настоящее изобретение также относится к способам получения антитела, которое связывается с белком ENTPD2

человека, с помощью клетки-хозяина. В одном варианте осуществления способ включает культивирование клетки-хозяина (в которую был введен рекомбинантный вектор экспрессии, кодирующий антитело) в подходящей среде таким образом, чтобы продуцировалось антитело, которое связывается с белком ENTPD2 человека. В другом варианте осуществления способ дополнительно включает выделение антитела из среды или клетки-хозяина. Подходящие эукариотические клетки включают без ограничения клетки Vero, клетки HeLa, клетки COS, клетки CHO, клетки HEK293, клетки BHK и клетки MDCKII.

Получение моноклональных антител

Моноклональные антитела (mAb) можно получать с помощью ряда методик, в том числе традиционного способа получения моноклональных антител, например, стандартной методики гибридизации соматических клеток по Kohler and Milstein, 1975 Nature 256: 495. Можно использовать множество методик получения моноклонального антитела, например, вирусную или онкогенную трансформацию B-лимфоцитов.

Животная система для получения гибридом представляет собой мышиную систему. Получение гибридомы в организме мыши является хорошо отработанной процедурой. Протоколы иммунизации и методики выделения иммунизированных спленоцитов для слияния известны из уровня техники. Партнеры по слиянию (например, клетки миеломы мыши) и процедуры слияния также являются известными.

В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему изобретению представляют собой гуманизированные моноклональные антитела. Химерные или гуманизированные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению можно получить, исходя из последовательности моноклонального антитела мыши, полученного согласно описанному выше. ДНК, кодирующую тяжелую и легкую цепи иммуноглобулинов, можно получить из мышиной гибридомы, представляющей интерес, и сконструировать таким образом, чтобы она содержала последовательности иммуноглобулинов, отличные от мышиных (например, человеческие), с применением стандартных методик молекулярной биологии. Например, для создания химерного антитела мышиные вариабельные области можно связать с человеческими константными областями с применением способов, известных из уровня техники (см., например, патент США № 4816567 авторства Cabilly et al.). Для создания гуманизированного антитела мышиные CDR-области мыши можно вставить в человеческую каркасную область с применением способов, известных из уровня техники. См., например, патент США № 5225539 авторства Winter и патенты США №№ 5530101; 5585089; 5693762 и 6180370 авторства Queen et al.

В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему изобретению представляют собой человеческие моноклональные антитела. Такие человеческие моноклональные антитела, направленные против ENTPD2, можно получать с использованием трансгенных или трансхромосомных мышей, несущих части человеческой иммунной системы вместо мышиной системы. Эти трансгенные и

трансхромосомные мыши включают мышей, называемых в данном документе соответственно мышами HuMAb и мышами KM, и они в совокупности называются в данном документе "мышами с человеческим Ig".

Мышь HuMAb® (Medarex, Inc.) содержит минилокусы генов человеческих иммуноглобулинов, которые кодируют не подвергшиеся перегруппировке последовательности тяжелых цепей (мю и гамма) и каппа-легкой цепи иммуноглобулина человека, вместе с целенаправленными мутациями, которые инактивируют эндогенные локусы мю- и каппа-цепей (см., например, Lonberg, et al., 1994 Nature 368 (6474): 856-859). Соответственно, мыши проявляют сниженную экспрессию IgM или K мыши, и в ответ на иммунизацию введенные трансгены, кодирующие человеческие тяжелые и легкие цепи, подвергаются переключению класса и соматической мутации с получением высокоаффинного моноклонального IgG-каппа человека (Lonberg, N. et al., 1994, выше; обзор в Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg, N. and Huszar, D., 1995 Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93, и Harding, F. and Lonberg, N., 1995 Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546). Получение и использование мышей HuMAb, а также геномные модификации, которые несут такие мыши, дополнительно описываются в Taylor, L. et al., 1992 Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen, J. et al., 1993 International Immunology 5: 647-656; Tuaillon et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724; Choi et al., 1993 Nature Genetics 4:117-123; Chen, J. et al., 1993 EMBO J. 12: 821-830; Tuaillon et al., 1994 J. Immunol. 152:2912-2920; Taylor, L. et al., 1994 International Immunology 579-591; и Fishwild, D. et al., 1996 Nature Biotechnology 14: 845-851. См. также патенты США №№ 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; 5789650; 5877397; 5661016; 5814318; 5874299 и 5770429; все авторства Lonberg и Kay; патент США № 5545807 авторства Surani et al.; PCT-публикации №№ WO 92103918, WO 93/12227, WO 94/25585, WO 97113852, WO 98/24884 и WO 99/45962, все авторства Lonberg и Kay; и PCT-публикацию № WO 01/14424 авторства Korman et al.

В некоторых вариантах осуществления продуцирование человеческих антител по настоящему изобретению можно осуществлять с использованием мыши, которая несет последовательности человеческих иммуноглобулинов в трансгенах и трансхромосомах, как, например, мыши, которая несет трансген, кодирующий человеческую тяжелую цепь, и трансхромосому, кодирующую человеческую легкую цепь. Такие мыши, называемые в данном документе "мышами KM", подробно описаны в PCT-публикации WO 02/43478 авторства Ishida et al.

Более того, альтернативные трансгенные животные системы, экспрессирующие гены человеческих иммуноглобулинов, являются доступными из уровня техники, и их можно использовать для продуцирования ENTPD2-связывающих антител и их антигенсвязывающих фрагментов. Например, можно использовать альтернативную трансгенную систему, называемую Xenomouse (Abgenix, Inc.). Такие мыши описаны, например, в патентах США №№ 5939598; 6075181; 6114598; 6150584 и 6162963 авторства Kucherlapati et al.

Более того, альтернативные трансхромосомные животные системы, экспрессирующие гены человеческих иммуноглобулинов, являются доступными из уровня техники, и их можно использовать для продуцирования ENTPD2-связывающих антител по настоящему изобретению. Например, можно использовать мышей, несущих как трансхромосому, кодирующую человеческую тяжелую цепь, так и трансхромосому, кодирующую человеческую легкую цепь, называемых "мышами TC"; такие мыши описаны в Tomizuka et al., 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727. Кроме того, в уровне техники были описаны коровы, несущие трансхромосомы, кодирующие человеческие тяжелые и легкие цепи (Kuroiwa et al., 2002 Nature Biotechnology 20:889-894), и их можно использовать для продуцирования ENTPD2-связывающих антител по настоящему изобретению.

Человеческие моноклональные антитела также можно получать с применением способов фагового дисплея для скрининга библиотек генов человеческих иммуноглобулинов. Такие способы фагового дисплея для выделения человеческих антител определены в уровне техники или описаны в примерах ниже. См., например, патенты США №№ 5223409; 5403484 и 5571698 авторства Ladner et al; патенты США №№ 5427908 и 5580717 авторства Dower et al; патенты США №№ 5969108 и 6172197 авторства McCafferty et al. и патенты США №№ 5885793; 6521404; 6544731; 6555313; 6582915 и 6593081 авторства Griffiths et al.

Человеческие моноклональные антитела по настоящему изобретению также можно получать с использованием мышей SCID, которым были перенесены человеческие иммунные клетки таким образом, что после иммунизации может формироваться ответ с образованием человеческих антител. Такие мыши описаны, например, в патентах США №№ 5476996 и 5698767 авторства Wilson et al.

Способы конструирования модифицированных антител

Как обсуждается выше, ENTPD2-связывающие антитела, имеющие последовательности VH и VL или последовательности полноразмерной тяжелой и легкой цепей, показанные в данном документе, можно использовать для создания новых ENTPD2-связывающих антител путем модификации последовательностей полноразмерной тяжелой цепи и/или легкой цепи, последовательностей VH и/или VL или константной(константных) области(областей), присоединенной(присоединенных) к ним. Таким образом, в другом аспекте настоящего изобретения структурные признаки ENTPD2-связывающего антитела по настоящему изобретению используются для создания структурно родственных ENTPD2-связывающих антител, которые сохраняют по меньшей мере одно функциональное свойство антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению, как, например, связывание с ENTPD2 человека и его ингибирование.

Например, одну или несколько CDR-областей антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению или их мутантных вариантов можно объединить рекомбинантным путем с известными каркасными областями и/или другими CDR с

созданием дополнительных сконструированных рекомбинантным путем ENTPD2-связывающих антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению, как обсуждается выше. Другие типы модификаций включают модификации, описанные в предыдущем разделе. Исходным материалом для способа конструирования является одна или несколько из последовательностей VH и/или VL, предусмотренных в данном документе, или одна или несколько их CDR-областей. Для создания сконструированного антитела не обязательно фактически получать (т. е. экспрессировать в виде белка) антитело, имеющее одну или несколько последовательностей VH и/или VL, предусмотренных в данном документе, или одну или несколько их CDR-областей. Вместо этого информацию, содержащуюся в последовательности(последовательностях), используют в качестве исходного материала для получения последовательности(последовательностей) "второго поколения", полученной(полученных) из исходной(исходных) последовательности(последовательностей), а затем последовательность(последовательности) "второго поколения" получают и экспрессируют в виде белка.

Измененную последовательность антитела также можно получить посредством скрининга библиотек антител, имеющих фиксированные последовательности CDR3 или минимальные необходимые детерминанты связывания, которые описаны в US20050255552, и разнообразные последовательности CDR1 и CDR2. Скрининг можно осуществлять согласно любой технологии скрининга, подходящей для скрининга антител из библиотек антител, как, например, технологии фагового дисплея.

Стандартные методики молекулярной биологии можно применять для получения и экспрессии измененной последовательности антитела. Антитело, кодируемое измененной(измененными) последовательностью(последовательностями) антитела, представляет собой антитело, которое сохраняет одно, некоторые или все из функциональных свойств ENTPD2-связывающих антител, описанных в данном документе, при этом данные функциональные свойства включают без ограничения специфичное связывание с белком ENTPD2 человека и его стабилизацию.

Функциональные свойства измененных антител можно оценить с помощью стандартных анализов, доступных из уровня техники и/или описанных в данном документе, таких как анализы, изложенные в разделе "Примеры" (например, разновидности ELISA).

В некоторых вариантах осуществления способов конструирования антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению мутации можно вводить произвольным или избирательным образом по всей последовательности, кодирующей ENTPD2-связывающее антитело, или ее части, и полученные модифицированные ENTPD2-связывающие антитела можно подвергнуть скринингу в отношении активности связывания и/или других функциональных свойств, описанных в данном документе. Способы введения мутаций были описаны в уровне техники. Например, в PCT-

публикации WO 02/092780 описываются способы создания и скрининга мутантных вариантов антител с применением насыщающего мутагенеза, сборки с лигированием синтезированных фрагментов или их комбинации. В качестве альтернативы в PCT-публикации WO 03/074679 описываются способы применения способов вычислительного скрининга для оптимизации физико-химических свойств антител.

Определение характеристик антител

Характеристики антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению могут быть определены с помощью различных функциональных анализов. Например, их характеристики могут быть определены по их способности к связыванию с белком ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека).

Способность антитела к связыванию с ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека) можно выявить прямым способом посредством мечения антитела, представляющего интерес, или антитело может быть немеченым, и связывание выявляют непрямым способом с применением различных форматов сэндвич-анализов, известных из уровня техники.

В некоторых вариантах осуществления ENTPD2-связывающие антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению блокируют связывание эталонного ENTPD2-связывающего антитела с белком ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека) или конкурируют с ним за это связывание. Они могут представлять собой полностью человеческие или гуманизированные ENTPD2-связывающие антитела, описанные выше. Они также могут представлять собой другие человеческие, мышиные, химерные или гуманизированные ENTPD2-связывающие антитела, которые связываются с тем же эпитопом, что и эталонное антитело. Способность к блокированию связывания эталонного антитела или конкуренции с ним за это связывание указывает на то, что тестируемое ENTPD2-связывающее антитело связывается с тем же или сходным эпитопом по сравнению с эпитопом, определяемым эталонным антителом, или с эпитопом, который расположен достаточно близко к эпитопу, с которым связывается эталонное ENTPD2-связывающее антитело. Особенно вероятно, что такие антитела обладают преимущественными свойствами, идентифицированными для эталонного антитела. Способность к блокированию эталонного антитела или конкуренции с ним можно определить, например, с помощью конкурентного анализа связывания. В конкурентном анализе связывания тестируемое антитело исследуют в отношении способности к ингибированию специфичного связывания эталонного антитела с общим антигеном, таким как белок ENTPD2 (например, белок ENTPD2 человека). Тестируемое антитело конкурирует с эталонным антителом за специфичное связывание с антигеном, если избыток тестируемого антитела осуществляет значительное ингибирование связывания эталонного антитела. Значительное ингибирование означает, что тестируемое антитело обычно снижает специфичное связывание эталонного антитела на по меньшей мере 10%, 25%, 50%, 75% или 90%.

Существует ряд известных конкурентных анализов связывания, которые можно

применять для оценки конкуренции антитела с эталонным антителом за связывание с конкретным белком, в данном случае с ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека). Они включают, например, твердофазный прямой или непрямой радиоиммунологический анализ (RIA), твердофазный прямой или непрямой иммуноферментный анализ (EIA), конкурентный сэндвич-анализ (см. Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242-253, 1983); твердофазный прямой EIA с использованием комплекса биотин-авидин (см. Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614-3619, 1986); твердофазный анализ с прямым мечением, твердофазный сэндвич-анализ с прямым мечением (см. Harlow & Lane, выше); твердофазный RIA с прямым мечением с использованием метки I-125 (см. Morel et al., Molec. Immunol. 25:7-15, 1988); твердофазный прямой EIA с использованием комплекса биотин-авидин (Cheung et al., Virology 176:546-552, 1990) и RIA с прямым мечением (Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol. 32:77-82, 1990). Как правило, такой анализ включает применение очищенного антигена, связанного с твердой поверхностью, или клеток, несущих любой из них, немеченого тестируемого ENTPD2-связывающего антитела и меченого эталонного антитела. Конкурентное ингибирование измеряют путем определения количества метки, связавшейся с твердой поверхностью или клетками в присутствии тестируемого антитела. Обычно тестируемое антитело присутствует в избытке. Антитела, идентифицируемые с помощью конкурентного анализа (конкурирующие антитела), включают в себя антитела, связывающиеся с тем же эпитопом, что и эталонное антитело, и антитела, связывающиеся со смежным эпитопом, который расположен достаточно близко к эпитопу, с которым связывается эталонное антитело, чтобы имело место стерическое несоответствие.

Для определения того, связываются ли выбранные ENTPD2-связывающие моноклональные антитела с уникальными эпитопами, каждое антитело можно биотинилировать с помощью коммерчески доступных реагентов (например, реагентов от Pierce, Рокфорд, Иллинойс). Конкурентные исследования с использованием немеченых моноклональных антител и биотинилированных моноклональных антител можно осуществлять с использованием планшетов для ELISA, покрытых белком ENTPD2. Связывание биотинилированного MAb можно выявить с помощью зонда на основе конъюгата стрептавидина и щелочной фосфатазы. Для определения изотипа очищенного ENTPD2-связывающего антитела можно выполнять ELISA с определением изотипа. Например, лунки титрационных микропланшетов можно покрывать 1 мкг/мл антитела к IgG человека в течение ночи при 4°C. После блокирования с помощью 1% BSA в планшетах осуществляют реакцию с моноклональным ENTPD2-связывающим антителом в концентрации 1 мкг/мл или меньше или очищенными изотипическими контролями при температуре окружающей среды в течение одного-двух часов. Затем содержимое лунок можно приводить в реакцию со специфическими в отношении IgG1 человека либо IgM человека зондами, конъюгированными со щелочной фосфатазой. Планшеты затем проявляют и анализируют таким образом, чтобы можно было определить изотип очищенного антитела.

Для демонстрации связывания моноклональных ENTPD2-связывающих антител с живыми клетками, экспрессирующими белок ENTPD2 (например, белок ENTPD2 человека), можно применять проточную цитометрию. Вкратце, линии клеток, экспрессирующих ENTPD2 (выращиваемые при стандартных условиях роста), можно смешивать с различными концентрациями ENTPD2-связывающего антитела в PBS, содержащем 0,1% BSA и 10% фетальную телячью сыворотку крови, и инкубировать при 37°C в течение 1 часа. После промывания осуществляют реакцию клеток с антителом к IgG человека, меченным флуоресцеином, при тех же самых условиях, что и при окрашивании первичным антителом. Образцы можно анализировать с помощью прибора FACScan с использованием свойств светорассеяния и бокового рассеяния в целях гейтирования по отдельным клеткам. Можно применять альтернативный анализ с использованием флуоресцентной микроскопии (в дополнение к анализу или вместо анализа) методом проточной цитометрии. Клетки можно окрашивать точно так же, как описано выше, и исследовать с помощью флуоресцентной микроскопии. Этот способ позволяет визуализировать отдельные клетки, однако может характеризоваться сниженной чувствительностью в зависимости от плотности антигена.

ENTPD2-связывающие антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению можно дополнительно тестировать в отношении реактивности с белком ENTPD2 (например, белком ENTPD2 человека) или антигенным фрагментом с помощью вестерн-блоттинга. Вкратце, очищенный белок ENTPD2 (например, белок ENTPD2 человека) или слитые белки на его основе или клеточные экстракты из клеток, экспрессирующих ENTPD2, можно получить и подвергнуть электрофорезу в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия. После электрофореза разделенные антигены переносят на нитроцеллюлозные мембраны, блокированные 10% фетальной телячьей сывороткой крови, и зондируют с помощью моноклональных антител, подлежащих тестированию. Связывание с IgG человека можно выявить с помощью антитела к IgG человека, конъюгированного с щелочной фосфатазой, и проявить с помощью субстрата BCIP/NBT в виде таблеток (Sigma Chem. Co., Сент-Луис, Миссури).

ENTPD2-связывающие антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению можно дополнительно тестировать в отношении их способностей к модулированию одной или нескольких форм активности/функций ENTPD2.

ENTPD2-связывающие антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению также можно тестировать с помощью любого из способов или анализов, описанных в разделе "Примеры".

Способы лечения и терапевтическое применение

Антитела по настоящему изобретению имеют многочисленные диагностические и терапевтические полезные свойства in vitro и in vivo, которые включают диагностику и лечение нарушений с ENTPD2-зависимыми патофизиологическими особенностями. Например, эти молекулы можно вводить в клетки в культуре in vitro или ex vivo или

субъектам-людям, например, in vivo, для лечения, предупреждения и диагностики ряда нарушений с ENTPD2-зависимыми патофизиологическими особенностями. Соответственно, в одном аспекте в данном документе предусмотрены способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в данном документе, нуклеиновой кислоты, кодирующей такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, клетки, содержащей такие нуклеиновую кислоту или вектор, или фармацевтической композиции, содержащей такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту, вектор или клетку. В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ ингибирования или снижения интенсивности роста опухолевых клеток у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к ENTPD2 человека, раскрытого в данном документе.

В другом аспекте предусмотрен способ лечения субъекта, например, снижения интенсивности или облегчения гиперпролиферативного состояния или нарушения (например, рака), например, солидной опухоли, гематологического рака, опухоли мягких тканей или метастатического поражения у субъекта.

Соответственно, в одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ ингибирования роста опухолевых клеток у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или нескольких молекул антитела к ENTPD2 человека или их функциональных фрагментов, описанных в данном документе, в отдельности или в комбинации с другими средствами, например, терапевтическими средствами, или терапевтическими методами.

В некоторых вариантах осуществления такие способы могут дополнительно включать стадию анализа уровней экспрессии ENTPD2 в образце, полученном от субъекта, например, в биоптате ткани субъекта.

Термин "рак" подразумевается как включающий все типы раковых образований или онкогенных процессов, метастатических тканей или злокачественно трансформированных клеток, тканей или органов независимо от гистопатологического типа или стадии инвазивности. Примеры раковых нарушений включают без ограничения солидные опухоли, опухоли мягких тканей и метастатические поражения. Примеры солидных опухолей включают злокачественные новообразования, например, формы саркомы, формы аденокарциномы и формы карциномы различных систем органов, как, например, те, которые поражают печень, легкое, молочную железу, лимфоидную ткань, желудочно-кишечный тракт (например, толстую кишку), мочеполовой тракт (например, клетки почки, уротелиальные клетки), предстательную железу и глотку. Формы аденокарциномы включают такие злокачественные новообразования, как большинство форм рака толстой кишки, рак прямой кишки, почечноклеточную карциному, рак печени (гепатокарциному, например, гепатокарциному на поздней стадии при наличии или

отсутствии вирусной инфекции, например, хронического вирусного гепатита), немелкоклеточную карциному легкого, рак тонкой кишки и рак пищевода. Формы плоскоклеточной карциномы включают злокачественные новообразования, например, в легком, пищеводе, коже, области головы и шеи, полости рта, заднем проходе и шейке матки.

Метастатические поражения при вышеупомянутых формах рака также можно лечить или предупреждать с помощью способов и композиций по настоящему изобретению.

Иллюстративные формы рака, рост которых можно ингибировать с помощью молекул антител, раскрытых в данном документе, включают формы рака, как правило, отвечающие на иммунотерапию. Неограничивающие примеры предпочтительных форм рака для лечения включают рак желудочно-кишечного тракта (например, рак желудка (желудочный рак), рак ободочной и прямой кишки (CRC)), рак пищевода (например, плоскоклеточную карциному пищевода (ESCC)), рак поджелудочной железы и холангиокарциному. Кроме того, рефрактерные или рецидивирующие злокачественные новообразования можно лечить с помощью молекул антител, описанных в данном документе.

Примеры других форм рака, которые можно лечить, включают рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (например, NSCLC плоскоклеточного и/или неплоскоклеточного гистологического подтипа или NSCLC в форме аденокарциномы)), меланому (например, меланому на поздней стадии), рак почки (например, почечноклеточную карциному, например, светлоклеточную почечноклеточную карциному), рак печени, миелому (например, множественную миелому), рак предстательной железы, рак молочной железы (например, рак молочной железы, который не характеризуется экспрессией одного, двух или всех из эстрогенового рецептора, прогестеронового рецептора или Her2/neu, например, трижды негативный рак молочной железы), рак поджелудочной железы, рак головы и шеи (например, плоскоклеточную карциному головы и шеи (HNSCC)), рак анального канала, рак желудка и пищевода, рак щитовидной железы, рак шейки матки, лимфопролиферативное заболевание (например, посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание) или гематологический рак, Т-клеточную лимфому, неходжкинскую лимфому или лейкоз (например, миелоидный лейкоз), рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы и шеи, злокачественную меланому кожи или внутриглазную злокачественную меланому, рак матки, рак яичника, рак прямой кишки, рак анального канала, рак желудка и пищевода, рак желудка, рак яичка, рак матки, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, миелому (например, множественную миелому), рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечника, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, хронические или острые формы лейкоза, в том числе острый миелоидный

лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарную лимфому, рак мочевого пузыря, рак почки (например, почечный рак, например, почечноклеточную карциному (RCC) (например, метастатическую RCC или светлоклеточную почечноклеточную карциному)), рак мочеточника, карциному почечной лоханки, неоплазию центральной нервной системы (CNS), первичную лимфому CNS, ангиогенез в опухоли, опухоль оси позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, формы рака, индуцированные факторами окружающей среды, в том числе индуцированные асбестом, и комбинации указанных форм рака.

В некоторых вариантах осуществления средства терапии, представленные в данном документе, можно применять для лечения пациента, у которого имеется (или который идентифицирован как имеющий) рак, ассоциированный с инфекцией, например, вирусной или бактериальной инфекцией. Иллюстративные формы рака включают рак шейки матки, рак анального канала, HPV-ассоциированный плоскоклеточный рак головы и шеи, HPV-ассоциированные формы папилломы пищевода, HHV6-ассоциированные формы лимфомы, EBV-ассоциированные формы лимфомы (в том числе лимфома Беркитта), MALT-лимфому желудка, другие формы MALT-лимфомы, ассоциированные с инфекцией, HCC и саркому Капоши.

В других вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование или рак, включающий без ограничения лейкоз или лимфому. Например, молекулу антитела к ENTPD2 человека или ее антигенсвязывающий фрагмент в отдельности или в комбинации с другими средствами, например, терапевтическими средствами, можно применять для лечения форм рака и злокачественных новообразований, в том числе без ограничения, например, форм острого лейкоза, в том числе без ограничения, например, В-клеточного острого лимфоидного лейкоза ("BALL"), Т-клеточного острого лимфоидного лейкоза ("TALL"), острого лимфоидного лейкоза (ALL); одной или нескольких форм хронического лейкоза, в том числе без ограничения, например, хронического миелогенного лейкоза (CML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL); дополнительных форм гематологического рака или гематологических состояний, в том числе без ограничения, например, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, бластной плазмоцитоидной дендритноклеточной неоплазии, лимфомы Беркитта, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, волосатоклеточного лейкоза, мелкоклеточной или крупноклеточной фолликулярной лимфомы, злокачественных лимфопролиферативных состояний, MALT-лимфомы, мантийноклеточной лимфомы, лимфомы из клеток маргинальной зоны, множественной миеломы, миелодисплазии и миелодиспластического синдрома, неходжкинской лимфомы, плазмобластной лимфомы, плазмоцитоидной дендритноклеточной неоплазии, макроглобулинемии Вальденстрема и "предлейкоза", который представляет собой разнообразную группу гематологических состояний,

объединенных неэффективным образованием (или дисплазией) миелоидных клеток крови, и т. п.

В одном варианте осуществления рак выбран из рака ободочной кишки (например, рака ободочной и прямой кишки (CRC) или аденокарциномы ободочной и прямой кишки), рака желудка (например, аденокарциномы желудка, карциномы желудка), рака пищевода (например, плоскоклеточной карциномы пищевода (ESCC)), рака легкого (например, мелкоклеточного рака легкого), рака молочной железы (например, аденокарциномы молочной железы) или рака яичника.

В одном варианте осуществления рак представляет собой рак ободочной и прямой кишки (CRC) или аденокарциному ободочной и прямой кишки.

В другом варианте осуществления рак представляет собой рак желудка.

В еще одном варианте осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному пищевода (ESCC).

В еще одном варианте осуществления рак характеризуется сверхэкспрессией ENTPD2 (является ENTPD2-положительным/ENTPD2+), как, например, ENTPD2+ CRC, ENTPD2+ рак желудка (например, ENTPD2-положительный рак желудка), ENTPD2+ плоскоклеточная карцинома пищевода (ENTPD2+ ESCC).

Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, или вектор или клетку, содержащие нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, или фармацевтическую композицию, содержащую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту, вектор или клетку, можно вводить субъекту посредством внутривенного, внутриопухолевого или подкожного путей. В некоторых вариантах осуществления такие антитело или его фрагмент, нуклеиновую кислоту, вектор, клетку или фармацевтическую композицию вводят внутривенно.

Также предусмотрены антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, фармацевтическая композиция, содержащая такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновая кислота, кодирующая такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, или вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, для применения в лечении рака.

В настоящем изобретении также предусмотрены пути применения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, фармацевтической композиции, содержащей такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновой кислоты, кодирующей такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, или вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

Виды комбинированной терапии

Различные средства лечения, описанные выше, можно применять в комбинации с другим средством лечения. Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей комбинацию в соответствии с настоящим изобретением, описанную в данном документе, в частности, вместе с инструкциями по одновременному, раздельному или последовательному ее применению (особенно в случае совместной активности) в лечении рака. Например, антитела к ENTPD2 или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, можно применять в комбинации с одним или несколькими средствами лечения, представляющими собой стандарт оказания медицинской помощи (например, при раке), другой молекулой антитела, иммуномодулятором (например, активатором костимулирующей молекулы или ингибитором коингибирующей молекулы); вакциной, например, терапевтической противораковой вакциной; или другими формами клеточной терапии, описанными ниже.

Соответственно, способы лечения рака, описанные в данном документе, могут дополнительно включать введение по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства субъекту, нуждающемуся в лечении. Также в данном документе предусмотрены способы лечения рака, включающие введение по меньшей мере двух дополнительных терапевтических средств субъекту, нуждающемуся в лечении.

Термин "комбинация" относится к фиксированной комбинации в одной единичной лекарственной форме либо к комбинированному введению, где соединение по настоящему изобретению и по меньшей мере одного партнера по комбинации (например, по меньшей мере одно другое лекарственное средство, которое поясняется ниже, также называемое "терапевтическим(терапевтическими) средством(средствами)" или "совместно применяемым(применяемыми) средством(средствами)") можно вводить независимо в одно и то же время или по отдельности в пределах временных промежутков, особенно если эти временные промежутки обеспечивают партнерам по комбинации возможность проявления кооперативного, например, синергического, эффекта. Отдельные компоненты могут быть упакованы в набор или предоставлены по отдельности. Один или оба компонента (например, порошки или жидкости) могут быть восстановлены или разбавлены до необходимой дозы перед введением. Термины "совместное введение" или "комбинированное введение" или им подобные, используемые в данном документе, подразумеваются как охватывающие введение выбранного партнера по комбинации одному субъекту, нуждающемуся в этом (например, пациенту), и предполагают включение режимов лечения, в которых средства не обязательно вводят одним и тем же путем введения или в одно и то же время. Термин "фармацевтическая комбинация", используемый в данном документе, означает продукт, полученный в результате смешивания или комбинирования более чем одного терапевтического средства, который включает как фиксированные, так и нефиксированные комбинации терапевтических средств. Термин "фиксированная комбинация" означает, что оба терапевтические средства, например, соединение по настоящему изобретению и партнера по комбинации, вводят пациенту одновременно в виде единого объекта или дозы. Термин

"нефиксированная комбинация" означает, что терапевтические средства, например, соединение по настоящему изобретению и по меньшей мере одного партнера по комбинации, вводят пациенту в виде отдельных объектов одновременно, параллельно либо последовательно без конкретных временных ограничений, при этом такое введение обеспечивает терапевтически эффективные уровни по меньшей мере двух соединений в организме пациента. Последнее также применимо в отношении "коктейльной терапии", например, при введении трех или более терапевтических средств.

Используемый в данном документе термин "фармацевтическая комбинация" относится к фиксированной комбинации в одной единичной лекарственной форме либо нефиксированной комбинации или набору из частей для комбинированного введения, где два или более терапевтических средства можно вводить независимо в одно и то же время или по отдельности в пределах временных промежутков, особенно если эти временные промежутки обеспечивают партнерам по комбинации возможность проявления кооперативного, например, синергического, эффекта.

Термин "комбинированная терапия" относится к введению двух или более терапевтических средств для лечения терапевтического состояния или нарушения, описанного в настоящем изобретении. Такое введение охватывает совместное введение данных терапевтических средств по существу одновременно, как, например, в одной капсуле, имеющей фиксированное соотношение активных ингредиентов. В качестве альтернативы такое введение охватывает совместное введение в нескольких или в отдельных контейнерах (например, таблетках, капсулах, порошках и жидкостях) для каждого активного ингредиента. Порошки и/или жидкости могут быть восстановлены или разбавлены до требуемой дозы перед введением. Кроме того, такое введение также охватывает применение каждого типа терапевтического средства последовательно примерно в одно и то же время либо в разное время. В любом случае режим лечения будет обеспечивать благоприятные эффекты комбинации лекарственных средств при лечении состояний или нарушений, описанных в данном документе.

Молекулы антител к ENTPD2 можно применять в комбинации с другими средствами терапии. Например, комбинированная терапия может включать композицию по настоящему изобретению, совместно составленную и/или вводимую вместе с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, например, одним или несколькими противораковыми средствами, цитотоксическими или цитостатическими средствами, гормональными средствами лечения, вакцинами и/или другими средствами иммунотерапии. В других вариантах осуществления молекулы антител вводят в комбинации с другими методами терапевтического лечения, включающими хирургическое вмешательство, облучение, криохирургию и/или термотерапию. В таких видах комбинированной терапии можно преимущественно использовать более низкие дозы вводимых терапевтических средств, избегая таким образом возможных токсических эффектов или осложнений, связанных с различными видами монотерапии.

Термин "в комбинации с" не предполагает обозначение того, что вид терапии или

терапевтические средства должны вводиться в одно и то же время и/или быть составлены для совместной доставки, хотя данные способы доставки находятся в пределах объема, описанного в данном документе.

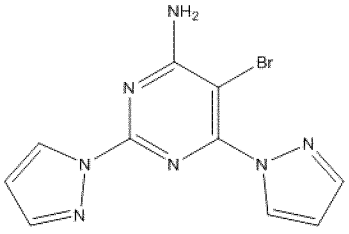
Молекулы антител к ENTPD2 человека можно вводить параллельно с по меньшей мере одним или несколькими дополнительными видами терапии или терапевтическими средствами, до них или после них. Молекулу антитела к ENTPD2 человека и другое по меньшей мере одно средство или терапевтический протокол можно применять в любом порядке. Как правило, каждое средство будет вводиться в дозе и/или по временному графику, которые определены для данного средства. Также следует понимать, что по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство, используемое в данной комбинации, можно вводить совместно в одной композиции или вводить по отдельности в разных композициях. В целом, ожидается, что дополнительные терапевтические средства, используемые в комбинации, будут использоваться на уровнях, которые не превышают уровни, на которых они используются по отдельности. В некоторых вариантах осуществления уровни, используемые в комбинации, будут ниже уровней при использовании по отдельности.

Настоящее изобретение, таким образом, помимо прочего, относится к комбинированному продукту для одновременного, раздельного или последовательного применения, такому как комбинированный препарат или фиксированная фармацевтическая комбинация, или к комбинации такого препарата и комбинации.

Иллюстративные антагонисты аденозинового рецептора A2A

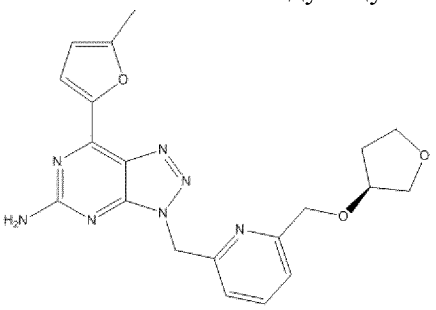
В определенных вариантах осуществления молекулы антител к ENTPD2 человека, описанные в данном документе, вводят в комбинации с по меньшей мере одним антагонистом аденозинового рецептора A2A (A2AR). В определенных вариантах осуществления молекулы антител к ENTPD2 человека, описанные в данном документе, вводят в комбинации с по меньшей мере двумя антагонистами аденозинового рецептора A2A (A2AR). Иллюстративные антагонисты A2AR включают без ограничения, например, PBF509/NIR178 (Palobiofarma/Novartis), CPI444/V81444 (Corvus/Genentech), AZD4635/HTL-1071 (AstraZeneca/Heptares), випаденант (Redox/Juno), GBV-2034 (Globavir), AB928 (Arcus Biosciences), теофиллин, истрадефиллин (Kyowa Hakko Kogyo), тозаденант/SYN-115 (Acorda), KW-6356 (Kyowa Hakko Kogyo), ST-4206 (Leadiant Biosciences) и преладенант/SCH 420814 (Merck/Schering).

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой PBF509/NIR178. PBF509/NIR178 и другие антагонисты A2AR раскрыты в US 8796284 и WO 2017/025918, включенных в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой 5-бром-2,6-ди-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амин или его фармацевтически приемлемую соль. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR имеет следующую структуру:



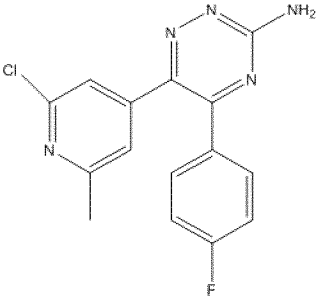
или его фармацевтически приемлемая соль.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой CPI444/V81444. CPI-444 и другие антагонисты A2AR раскрыты в WO 2009/156737, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой (S)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин или его фармацевтически приемлемую соль. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой (R)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин, или его рацемат, или его фармацевтически приемлемую соль. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой 7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин или его фармацевтически приемлемую соль. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR имеет следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

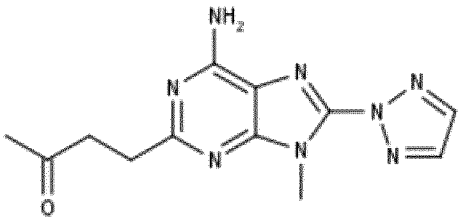
В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой AZD4635/HTL-1071. Антагонисты A2AR раскрыты в WO 2011/095625, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой 6-(2-хлор-6-метилпиридин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амин или его фармацевтически приемлемую соль. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR имеет следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой

ST-4206 (Leadiant Biosciences). В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR является антагонистом A2AR, описанным в US 9133197, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR имеет следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR является антагонистом A2AR, описанным в US8114845, US9029393, US20170015758 или US20160129108, включенных в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой истрадефиллин (регистрационный номер CAS: 155270-99-8). Истрадефиллин также известен как KW-6002 или 8-[(E)-2-(3,4-диметоксифенил)винил]-1,3-диэтил-7-метил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион. Истрадефиллин раскрыт, например, в LeWitt et al. (2008) Annals of Neurology 63 (3): 295-302.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой тозаденант (Biotie). Тозаденант также известен как SYN115 или 4-гидрокси-N-(4-метокси-7-морфолин-4-ил-1,3-бензотиазол-2-ил)-4-метилпиперидин-1-карбоксамид. Тозаденант блокирует эффект эндогенного аденозина в отношении рецепторов A2A, что приводит к усилению эффекта дофамина в отношении рецептора D2 и ингибированию эффекта глутамата в отношении рецептора mGluR5. В некоторых вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой преладенант (регистрационный номер CAS: 377727-87-2). Преладенант также известен как SCH 420814 или 2-(2-фуранил)-7-[2-[4-[4-(2-метоксиэтокси)фенил]-1-пиперазинил]этил]7H-пиразоло[4,3-e][1,2,4]триазоло[1,5-c]пиримидин-5-амин. Преладенант был разработан как лекарственное средство, действующее в качестве сильного и избирательного антагониста аденозинового рецептора A2A.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой випаденант. Випаденант также известен как BIIB014, V2006 или 3-[(4-амино-3-метилфенил)метил]-7-(фуран-2-ил)триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин.

Другие иллюстративные антагонисты A2AR включают, например, ATL-444, MSX-3, SCH-58261, SCH-412348, SCH-442416, VER-6623, VER-6947, VER-7835, CGS-15943 или ZM-241385.

В некоторых вариантах осуществления антагонист A2AR является антагонистом сигнального пути A2AR, например, ингибитором CD-73, например, антителом к CD73. Целенаправленное воздействие на внеклеточное продуцирование аденозина под действием CD73 может ослаблять иммуносупрессивные эффекты аденозина. Антитела к CD73 характеризуются рядом форм активности, например, ингибированием активности эктонуклеотидазы CD73, ослаблением AMP-опосредованной супрессии лимфоцитов и ингибированием роста сингенных опухолей. Антитела к CD73 могут управлять изменениями как в миелоидных, так и лимфоидных популяциях инфильтрирующих лейкоцитов в микроокружении опухоли. Эти изменения включают, например, увеличение количества CD8+ эффекторных клеток и активированных макрофагов, а также снижение доли супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) и регуляторных Т-лимфоцитов. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой полную молекулу антитела или ее антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 выбрана из любой из молекул антител, перечисленных в таблице 2. В других вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, последовательность вариабельного домена легкой цепи или их обе, раскрытые в таблице 2. В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 связывается с белком CD73 и снижает активность CD73, например, CD73 человека, например, ингибирует ее или оказывает на нее антагонистическое действие.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2016/075099, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой MEDI 9447, например, раскрытый в WO 2016/075099. Альтернативные названия MEDI 9447 включают клон 10.3 или 73combo3. MEDI 9447 представляет собой антитело IgG1, которое ингибирует активность CD73, например, оказывает на нее антагонистическое действие. MEDI 9447 и другие молекулы антител к CD73 также раскрыты в WO 2016/075176 и US2016/0129108, полное содержание которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из MEDI 9477. Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи MEDI 9477 раскрыта под SEQ ID NO: 295 (см. таблицу 2). Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи MEDI 9477 раскрыта под SEQ ID NO: 296 (см. таблицу 2).

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2016/081748, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой 11F11, например, раскрытый в WO 2016/081748. 11F11 представляет собой антитело IgG2, которое ингибирует активность CD73,

например, оказывает на нее антагонистическое действие. Антитела, полученные из 11F11, например, CD73.4 и CD73.10; клоны 11F11, например, 11F11-1 и 11F11-2; и другие молекулы антител к CD73 раскрыты в WO 2016/081748 и US 9605080, полное содержание которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из 11F11-1 или 11F11-2. Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи 11F11-1 раскрыта под SEQ ID NO: 302 (см. таблицу 2). Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи 11F11-1 раскрыта под SEQ ID NO: 303 (см. таблицу 2). Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи 11F11-2 раскрыта под SEQ ID NO: 299 (см. таблицу 2). Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи 11F11-2 раскрыта под SEQ ID NO: 300 (см. таблицу 2). В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит тяжелую цепь, легкую цепь или их обе из 11F11-1 или 11F11-2. Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей 11F11-1 раскрыты соответственно под SEQ ID NO: 297 и SEQ ID NO: 301 (см. таблицу 2). Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей 11F11-2 раскрыты соответственно под SEQ ID NO: 294 и SEQ ID NO: 298 (см. таблицу 2).

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое, например, в US 9605080, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой CD73.4, например, раскрытый в US 9605080. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из CD73.4. Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи CD73.4 раскрыта под SEQ ID NO: 304 (см. таблицу 2). Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи 11F11-2 раскрыта под SEQ ID NO: 305 (см. таблицу 2).

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой CD73.10, например, раскрытый в US 9605080. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из CD73.10. Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи CD73.10 раскрыта под SEQ ID NO: 306 (см. таблицу 2). Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи CD73.10 раскрыта под SEQ ID NO: 307 (см. таблицу 2).

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2009/0203538, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой 067-213, например, раскрытый в WO 2009/0203538.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит

вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из 067-213. Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи 067-213 раскрыта под SEQ ID NO: 308 (см. таблицу 2). Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи 067-213 раскрыта под SEQ ID NO: 309 (см. таблицу 2).

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в US 9090697, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой TY/23, например, раскрытый в US 9090697. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из TY/23.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2016/055609, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в WO 2016/055609.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2016/146818, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в WO 2016/146818.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2004/079013, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в WO 2004/079013.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2012/125850, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в WO 2012/125850.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2015/004400, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в WO 2015/004400.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в WO 2007/146968, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в WO 2007146968.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в US2007/0042392, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в US2007/0042392.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в US2009/0138977, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого в US2009/0138977.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое во Flocke et al., Eur J Cell Biol. 1992 Jun;58(1):62-70, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого во Flocke et al., Eur J Cell Biol. 1992 Jun;58(1):62-70.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой антитело к CD73, раскрытое в Stagg et al., PNAS. 2010 Jan 107(4): 1547-1552, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой TY/23 или TY11.8, раскрытый у Stagg et al. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельный домен тяжелой цепи, вариабельный домен легкой цепи или их оба из антитела к CD73, раскрытого у Stagg et al.

В одном варианте осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с молекулой антитела к CD73, например, описанной в данном документе, и антагонистом A2AR, необязательно выбранным из группы, содержащей PBF509/NIR178, CPI444/V81444, AZD4635/HTL-1071, випаденант, GBV-2034, AB928, теофиллин, истрадефиллин, тозаденант/SYN-115, KW-6356, ST-4206 и преладенант/SCH 420814.

Таблица 2. Последовательности иллюстративных молекул антител к CD73

WO2016075099 **MEDI 9447**		
SEQ ID NO: 295	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAYSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGRTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGYGRVDE WGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 296	VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSLSNIGRNPVNWY QQLPGTAPKLLIYLDNLRLSGVPDRFSGSKSGTSASL AISGLQSEDEADYYCATWDDSHPGWTFGGGTKLTV

		L
WO 2016/081748 **11F11-2**		
SEQ ID NO: 297	HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYP DSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 298	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 299	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYP DSFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 300	VL, каппа-цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
WO 2016/081748 **11F11-1**		
SEQ ID NO: 297	HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYP

		DSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTK VDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 301	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGPGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWHLTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 302	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYP DSFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 303	VL, каппа-цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGPGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWHLTFGGGTKVEIK
US9605080 **CD73.4**		
SEQ ID NO: 304	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYP DSFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 305	VL, каппа-цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
US9605080 **CD73.10**		

SEQ ID NO: 306	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAVIWYDESNKYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYP DSFDIWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 307	VL, каппа-цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
US9388249 **067-213**		
SEQ ID NO: 308	VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCVRSGSYNYYY YGMDVWGQGTTVTVSR
SEQ ID NO: 309	VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWY QQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTV LG

Молекулы антител к CD73, применяемые в видах комбинированной терапии, раскрытых в данном документе, могут содержать любую из последовательностей VH/VL, раскрытых в таблице 2, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную ей (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную ей). Иллюстративные последовательности антител к CD73 включают:

(i) аминокислотные последовательности VH и VL из MEDI 9447, SEQ ID NO: 295-296 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 295-296);

(ii) аминокислотные последовательности HC и LC из 11F11-2, SEQ ID NO: 297-298 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 297-298);

(iii) аминокислотные последовательности VH и VL из 11F11-2, SEQ ID NO: 299-300 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 299-300);

(iv) аминокислотные последовательности HC и LC из 11F11-1, SEQ ID NO: 297 и 301 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по

отношению к SEQ ID NO: 297 и 301);

(v) аминокислотные последовательности VH и VL из 11F11-1, SEQ ID NO: 302-303 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 302-303);

(vi) аминокислотные последовательности VH и VL из CD73.4, SEQ ID NO: 304-305 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 304-305);

(vii) аминокислотные последовательности VH и VL из CD73.10, SEQ ID NO: 306-307 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 306-307); или

(viii) аминокислотные последовательности VH и VL из 067-213, SEQ ID NO: 308-309 соответственно, или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, на по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 308-309).

Антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, можно применять в комбинации с ингибитором коингибирующей молекулы (например, ингибитором PD-1 (например, молекулой антитела к PD-1), ингибитором PD-L1 (например, молекулой антитела к PD-L1), ингибитором PD-L2 (например, молекулой антитела к PD-L2), ингибитором LAG-3 (например, молекулой антитела к LAG-3), ингибитором TIM-3 (например, молекулой антитела к TIM-3)), активатором костимулирующей молекулы (например, агонистом GITR (например, молекулой антитела к GITR)), цитокином (например, IL-15 в комплексе с растворимой формой альфа-субъединицы рецептора IL-15 (IL-15Ra)) или любой их комбинацией.

Ингибиторы PD-1

В определенных вариантах осуществления антитело к ENTPD2, описанное в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 выбран из PDR001 (Novartis), ниволумаба (Bristol-Myers Squibb), пембролизумаба (Merck & Co), пидилизумаба (CureTech), MEDI0680 (Medimmune), REGN2810 (Regeneron), TSR-042 (Tesaro), PF-06801591 (Pfizer), BGB-A317 (Beigene), BGB-108 (Beigene), INCSHR1210 (Incyte) или AMP-224 (Amplimmune).

Иллюстративные ингибиторы PD-1

В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой молекулу антитела к PD-1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой молекулу антитела к PD-1, описанную в US 2015/0210769, опубликованной 30 июля 2015 г. под названием "Antibody Molecules to PD-1 and Uses Thereof", включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит по меньшей

мере одну, две, три, четыре, пять или шесть областей, определяющих комплементарность (CDR) (или в совокупности все CDR), из вариабельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в таблице 3 (например, из последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой цепей BAP049 клона E или BAP049 клона B, раскрытых в таблице 3), или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 3. В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Kabat (например, как изложено в таблице 3). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Chothia (например, как изложено в таблице 3). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно комбинации определений CDR как по Kabat, так и по Chothia (например, как изложено в таблице 3). В одном варианте осуществления CDR1 VH согласно комбинации определений CDR по Kabat и Chothia содержит аминокислотную последовательность GYTFTTYWMH (SEQ ID NO: 541). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций, по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в таблице 3 или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 3.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 501, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 502 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 503; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 510, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 511 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 512, каждая из которых раскрыта в таблице 3.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, содержащую VHCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 524, VHCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 525, и VHCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 526; и VL, содержащую VLCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 529, VLCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 530, и VLCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 531, каждая из которых раскрыта в таблице 3.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 506 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 506. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 520 или аминокислотную последовательность, на по

меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 520. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 516 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 516. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 506, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 520. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 506, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 516.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 507 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 507. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 521 или 517 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 521 или 517. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 507, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 521 или 517.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 508 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 508. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 522 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 522. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 518 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 518. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 508, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 522. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 508, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 518.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 509 или нуклеотидной

последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 509. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 523 или 519 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 523 или 519. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 509, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 523 или 519.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в US 2015/0210769, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 3. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антител к PD-1

HC BAP049 клона B		
SEQ ID NO: 501 (Kabat)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 502 (Kabat)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 503 (Kabat)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 504 (Chothia)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 505 (Chothia)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 503 (Chothia)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMH WVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTGTG AYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 507	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTA AAGGTTCAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTC GAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGT

		GACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCC TATATGGAACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACA CCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGG CACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 508	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMH WVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTGTG AYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 509	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTA AAGGTTCAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTC GAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGT GACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCC TATATGGAACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACA CCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGG CACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCG TGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAG CGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAG GATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGA ACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCG CTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCT

		GGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCAC AAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCG AATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCC CGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTC TGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGAT TTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTG GACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCA ATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAACGC CAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTC CACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTG CATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAG TGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGC CCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAG CCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTG ACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATAT CGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGA AAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGAC TCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTGAC CGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGT GTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCAC AACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCT GGGA
LC BAP049 клона B		
SEQ ID NO: 510 (Kabat)	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511 (Kabat)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512 (Kabat)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513 (Chothia)	LCDR1	SQSLLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 514 (Chothia)	LCDR2	WAS

SEQ ID NO: 515 (Chothia)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 516	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKN FLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLQPEDIATYYCQNDYSYPYTFGQGTK VEIK
SEQ ID NO: 517	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGA GCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTG TAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAAT CAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGTAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTTCA CTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCTAC CTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTAC ACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 518	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKN FLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLQPEDIATYYCQNDYSYPYTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
SEQ ID NO: 519	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGA GCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTG TAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAAT CAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGTAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTTCA CTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCTAC CTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTAC ACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGC GTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC

		CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCC GGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCA CCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCT GAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCC ACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACAGGGGCGAGTGC
HC BAP049 клона E		
SEQ ID NO: 501 (Kabat)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 502 (Kabat)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 503 (Kabat)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 504 (Chothia)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 505 (Chothia)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 503 (Chothia)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMH WVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTGTG AYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 507	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTA AAGGTTCAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTC GAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGT GACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCC TATATGGAACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACA

		CCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGG CACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 508	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMH WVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTGTG AYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 509	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTAGCTGTA AAGGTTCAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTC GAGTGGATGGGTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGT GACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCC TATATGGAACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACA CCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGG CACAGGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCG TGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAG CGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAG GATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGA ACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCG CTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCT GGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCAC AAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCG

		AATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCC CGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTC TGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGAT TTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTG GACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCA ATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAACGC CAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTC CACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTG CATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAG TGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGC CCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAG CCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTG ACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATAT CGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGA AAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGAC TCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTGAC CGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAATGT GTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCAC AACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCT GGGA
LC BAP049 клона E		
SEQ ID NO: 510 (Kabat)	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511 (Kabat)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512 (Kabat)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513 (Chothia)	LCDR1	SQSLLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 514 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 515 (Chothia)	LCDR3	DYSYPY

SEQ ID NO: 520	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKN FLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTK VEIK
SEQ ID NO: 521	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGA GCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTG TAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAAT CAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTTCA CTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCGCTAC CTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTAC ACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 522	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKN FLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
SEQ ID NO: 523	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGA GCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGAGCTG TAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAAT CAGAAGAACTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTTCA CTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCGCTAC CTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTAC ACCTTCGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGC GTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCC CCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCC GGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG

		CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCA CCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCT GAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCC ACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACAGGGGCGAGTGC
HC BAP049 клона B		
SEQ ID NO: 524 (Kabat)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 525 (Kabat)	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCG ACGAGAAGTTTAAGAAT
SEQ ID NO: 526 (Kabat)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527 (Chothia)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528 (Chothia)	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
SEQ ID NO: 526 (Chothia)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
LC BAP049 клона B		
SEQ ID NO: 529 (Kabat)	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATC AGAAGAACTTCCTGACC
SEQ ID NO: 530 (Kabat)	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 531 (Kabat)	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 532 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGA ACTTC
SEQ ID NO: 533 (Chothia)	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 534 (Chothia)	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC
HC BAP049 клона E		
SEQ ID NO: 524	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC

(Kabat)		
SEQ ID NO: 525 (Kabat)	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCG ACGAGAAGTTTAAGAAT
SEQ ID NO: 526 (Kabat)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527 (Chothia)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528 (Chothia)	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
SEQ ID NO: 526 (Chothia)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
LC BAP049 клона E		
SEQ ID NO: 529 (Kabat)	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATC AGAAGAACTTCCTGACC
SEQ ID NO: 530 (Kabat)	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 531 (Kabat)	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 532 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGA ACTTC
SEQ ID NO: 533 (Chothia)	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 534 (Chothia)	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC

Другие иллюстративные ингибиторы PD-1

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой ниволумаб (Bristol-Myers Squibb), также известный как MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 или OPDIVO®. Ниволумаб (клон 5C4) и другие антитела к PD-1 раскрыты в US 8008449 и WO 2006/121168, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи ниволумаба, например, раскрытые в таблице 4.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой пембролизумаб (Merck & Co), также известный как ламбролизумаб, MK-3475, MK03475,

SCH-900475 или KEYTRUDA®. Пембролизумаб и другие антитела к PD-1 раскрыты в Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44, US 8354509 и WO 2009/114335, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи пембролизумаба, например, раскрытые в таблице 4.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой пидилизумаб (CureTech), также известный как CT-011. Пидилизумаб и другие антитела к PD-1 раскрыты в Rosenblatt, J. et al. (2011) J Immunotherapy 34(5): 409-18, US 7695715, US 7332582 и US 8686119, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи пидилизумаба, например, раскрытые в таблице 4.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой MEDI0680 (Medimmune), также известный как AMP-514. MEDI0680 и другие антитела к PD-1 раскрыты в US 9205148 и WO 2012/145493, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи MEDI0680.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой REGN2810 (Regeneron). В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи REGN2810.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой PF-06801591 (Pfizer). В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи PF-06801591.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой BGB-A317 или BGB-108 (Beigene). В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BGB-A317 или BGB-108.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой INCSHR1210 (Incyte), также известный как INCSHR01210 или SHR-1210. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи INCSHR1210.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой TSR-042 (Tesaro), также известный как ANB011. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TSR-042.

Дополнительные известные антитела к PD-1 включают антитела, описанные, например, в WO 2015/112800, WO 2016/092419, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2014/194302, WO 2014/209804, WO 2015/200119, US 8735553, US 7488802, US 8927697, US 8993731 и US 9102727, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом в PD-1, что и одно из антител к PD-1, описанных в данном документе.

В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой пептид, который ингибирует сигнальный путь PD-1, например, как описано в US 8907053, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой иммуноадгезин (например, иммуноадгезин, который содержит внеклеточную или PD-1-связывающую часть PD-L1 или PD-L2, слитую с константной областью (например, Fc-областью последовательности иммуноглобулина)). В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой AMP-224 (B7-DCIg (Amplimmune), например, раскрытый в WO 2010/027827 и WO 2011/066342, включенных посредством ссылки во всей своей полноте).

Таблица 4. Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антител к PD-1

Ниволумаб		
SEQ ID NO: 535	Тяжелая цепь	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP

		EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 536	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Пембролизумаб		
SEQ ID NO: 537	Тяжелая цепь	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYW VRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTD SSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 538	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHW YQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Пидилизумаб		
SEQ ID NO: 539	Тяжелая цепь	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWV RQAPGQGLQWMGWINTDSGESTYAEEFKGRFVFSLDT

		SVNTAYLQITSLTAEDTGMYFCVRVGYDALDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 540	Легкая цепь	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCSARSSVSYMHWFQQKP GKAPKLWIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGTSYCLTINSLQ PEDFATYYCQQRSSFPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

В одном варианте осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с по меньшей мере одним ингибитором PD-1, описанным в данном документе, и по меньшей мере одним антагонистом рецептора A2A, описанным в данном документе.

Ингибиторы PD-L1

В определенных вариантах осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором PD-L1. Ингибитор PD-L1 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 выбран из FAZ053 (Novartis), атезолизумаба, также известного как Tecentriq® (Genentech/Roche), авелумаба, также известного как Bavencio® (Merck Serono и Pfizer), дурвалумаба, также известного как Imfinzi® (MedImmune/AstraZeneca) или BMS-936559 (Bristol-Myers Squibb).

Иллюстративные ингибиторы PD-L1

В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой молекулу антитела к PD-L1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой молекулу антитела к PD-L1, раскрытую в US 2016/0108123, опубликованной 21 апреля 2016 г. под названием "Antibody Molecules to PD-L1 and Uses Thereof", включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть областей, определяющих

комплементарность (CDR) (или в совокупности все CDR), из вариабельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в таблице 5 (например, из последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой цепей BAP058 клона O или BAP058 клона N, раскрытых в таблице 5), или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 5. В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Kabat (например, как изложено в таблице 5). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Chothia (например, как изложено в таблице 5). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно комбинации определений CDR как по Kabat, так и по Chothia (например, как изложено в таблице 5). В одном варианте осуществления CDR1 VH согласно комбинации определений CDR по Kabat и Chothia содержит аминокислотную последовательность GYTFTSYWMY (SEQ ID NO: 647). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций, по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в таблице 5 или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 5.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 601, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 602 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 603; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 609, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 610 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 611, каждая из которых раскрыта в таблице 5.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VH, содержащую VHCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 628, VHCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 629, и VHCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 630; и VL, содержащую VLCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 633, VLCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 634, и VLCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 635, каждая из которых раскрыта в таблице 5.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 606 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 606. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 616 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID

NO: 616. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 620 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 620. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 624 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 624. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 606, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 616. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 620, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 624.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 607 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 607. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 617 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 617. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 621 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 621. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 625 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 625. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 607, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 617. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 621, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 625.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 608 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 608. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 618 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 618. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит тяжелую

цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 622 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 622. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 626 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 626. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 608, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 618. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 622, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 626.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 615 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 615. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 619 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 619. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 623 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 623. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 627 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 627. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 615, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 619. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 623, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 627.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в US 2016/0108123, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 5. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антител к PD-L1

HC BAP058 клона O		
SEQ ID NO: 601 (Kabat)	HCDR1	SYWMY

SEQ ID NO: 602 (Kabat)	HCDR2	RIDPNSGSTKYNEKFKN
SEQ ID NO: 603 (Kabat)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 604 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 605 (Chothia)	HCDR2	DPNSGS
SEQ ID NO: 603 (Chothia)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 606	VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWM YWVRQARGQRLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFKNRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYRK GLYAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 607	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCGCTACCGTGAAGATTAGCTG TAAAGTCTCAGGCTACACCTTCACTAGCTACTG GATGTACTGGGTCCGACAGGCTAGAGGGCAAA GACTGGAGTGGATCGGTAGAATCGACCCTAATA GCGGCTCTACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGA ATAGGTTCACTATTAGTAGGGATAACTCTAAGA ACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAG CCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAG ACTATAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACT GGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTCA
SEQ ID NO: 608	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWM YWVRQARGQRLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFKNRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYRK GLYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV

		LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG
SEQ ID NO: 615	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCGCTACCGTGAAGATTAGCTG TAAAGTCTCAGGCTACACCTTCACTAGCTACTG GATGTACTGGGTCCGACAGGCTAGAGGGCAAA GACTGGAGTGGATCGGTAGAATCGACCCTAATA GCGGCTCTACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGA ATAGGTTCACTATTAGTAGGGATAACTCTAAGA ACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAG CCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAG ACTATAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACT GGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTCAG CTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGG CACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCG CTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCC GGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGC CCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGT GCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTC GGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTAC CAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCC TTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATC GAAGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGC GCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTG TTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATT TCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTG GACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTC AATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAAC GCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGT GCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTA

		GCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAG GGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTG CCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCA AGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTAC CCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAAC GGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCC TCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTC TACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGG CAGGAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCTGTGATG CATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAG TCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
LC BAP058 клона O		
SEQ ID NO: 609 (Kabat)	LCDR1	KASQDVGTAVA
SEQ ID NO: 610 (Kabat)	LCDR2	WASTRHT
SEQ ID NO: 611(Kabat)	LCDR3	QQYNSYPLT
SEQ ID NO: 612 (Chothia)	LCDR1	SQDVGTA
SEQ ID NO: 613 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 614 (Chothia)	LCDR3	YNSYPL
SEQ ID NO: 616	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVAW YLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLEAEDAATYYCQQYNSYPLTFGQGTKVE IK
SEQ ID NO: 617	ДНК, кодирующая VL	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTG AGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACC TGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGCACCGCCGTG GCCTGGTATCTGCAGAAGCCTGGTCAATCACCT CAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACAC ACCGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT

		AGTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTTCAC TGGAAGCCGAGGACGCCGCTACCTACTACTGTC AGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTC AAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 618	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVAW YLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLEAEDAATYYCQQYNSYPLTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
SEQ ID NO: 619	ДНК, кодирующая легкую цепь	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTG AGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACC TGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGCACCGCCGTG GCCTGGTATCTGCAGAAGCCTGGTCAATCACCT CAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACAC ACCGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTTCAC TGGAAGCCGAGGACGCCGCTACCTACTACTGTC AGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTC AAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTG GCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAG GCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCT GCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCG AGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTG AGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGAC CCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC
HC BAP058 клона N		
SEQ ID NO: 601 (Kabat)	HCDR1	SYWMY
SEQ ID NO: 602	HCDR2	RIDPNSGSTKYNEKFKN

(Kabat)		
SEQ ID NO: 603 (Kabat)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 604 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 605 (Chothia)	HCDR2	DPNSGS
SEQ ID NO: 603 (Chothia)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 620	VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWM YWVRQATGQGLEWMGRIDPNSGSTKYNEKFKNR VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYR KGLYAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 621	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCGCTACCGTGAAGATTAGCTG TAAAGTCTCAGGCTACACCTTCACTAGCTACTG GATGTACTGGGTCCGACAGGCTACCGGTCAAGG CCTGGAGTGGATGGGTAGAATCGACCCTAATAG CGGCTCTACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGAA TAGAGTGACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG CACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCCTGAGATC AGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGA CTATAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTG GGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTCA
SEQ ID NO: 622	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWM YWVRQATGQGLEWMGRIDPNSGSTKYNEKFKNR VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYR KGLYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG

		QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG
SEQ ID NO: 623	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCGCTACCGTGAAGATTAGCTG TAAAGTCTCAGGCTACACCTTCACTAGCTACTG GATGTACTGGGTCCGACAGGCTACCGGTCAAGG CCTGGAGTGGATGGGTAGAATCGACCCTAATAG CGGCTCTACTAAGTATAACGAGAAGTTTAAGAA TAGAGTGACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG CACCGCCTATATGGAACTGTCTAGCCTGAGATC AGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGA CTATAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTG GGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTCAGC TAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGC ACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGC TGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCC GGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGC CCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGT GCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTC GGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTAC CAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCC TTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATC GAAGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGC GCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTG TTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATT TCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTG GACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTC AATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAAC GCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGT GCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTA GCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAG

		GGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTG CCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCA AGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTAC CCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAAC GGCCAGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCC TCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTC TACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGG CAGGAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCTGTGATG CATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAG TCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
LC BAP058 клона N		
SEQ ID NO: 609 (Kabat)	LCDR1	KASQDVGTAVA
SEQ ID NO: 610 (Kabat)	LCDR2	WASTRHT
SEQ ID NO: 611(Kabat)	LCDR3	QQYNSYPLT
SEQ ID NO: 612 (Chothia)	LCDR1	SQDVGTA
SEQ ID NO: 613 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 614 (Chothia)	LCDR3	YNSYPL
SEQ ID NO: 624	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQDVGTAVA WYQQKPGQAPRLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSG TEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTK VEIK
SEQ ID NO: 625	ДНК, кодирующая VL	GACGTCGTGATGACTCAGTCACCCCTGAGCCTG CCCGTGACCCTGGGGCAGCCCGCCTCTATTAGC TGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGCACCGCCGTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGCAAGCCCCT AGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACAC ACCGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGAGTTCACCCTGACTATCTCTTCA

		CTGCAGCCCGACGACTTCGCTACCTACTACTGT CAGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGT CAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 626	Легкая цепь	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQDVGTAVA WYQQKPGQAPRLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSG TEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
SEQ ID NO: 627	ДНК, кодирующая легкую цепь	GACGTCGTGATGACTCAGTCACCCCTGAGCCTG CCCGTGACCCTGGGGCAGCCCGCCTCTATTAGC TGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGCACCGCCGTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGCAAGCCCCT AGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGACAC ACCGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGAGTTCACCCTGACTATCTCTTCA CTGCAGCCCGACGACTTCGCTACCTACTACTGT CAGCAGTATAATAGCTACCCCCTGACCTTCGGT CAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTG GCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAG GCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCT GCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCG AGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTG AGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGAC CCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAG CTTCAACAGGGGCGAGTGC
HC BAP058 клона O		
SEQ ID NO: 628 (Kabat)	HCDR1	agctactggatgtac
SEQ ID NO: 629 (Kabat)	HCDR2	agaatcgaccctaatagcggctctactaagtataacgagaagtttaagaat

SEQ ID NO: 630 (Kabat)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
SEQ ID NO: 631 (Chothia)	HCDR1	ggctacaccttcactagctac
SEQ ID NO: 632 (Chothia)	HCDR2	gaccctaatagcggctct
SEQ ID NO: 630 (Chothia)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
LC BAP058 клона O		
SEQ ID NO: 633 (Kabat)	LCDR1	aaagcctctcaggacgtgggcaccgccgtggcc
SEQ ID NO: 634 (Kabat)	LCDR2	tgggcctctactagacacacc
SEQ ID NO: 635 (Kabat)	LCDR3	cagcagtataatagctacccccctgacc
SEQ ID NO: 636 (Chothia)	LCDR1	tctcaggacgtgggcaccgcc
SEQ ID NO: 637 (Chothia)	LCDR2	tgggcctct
SEQ ID NO: 638 (Chothia)	LCDR3	tataatagctacccccctg
HC BAP058 клона N		
SEQ ID NO: 628 (Kabat)	HCDR1	agctactggatgtac
SEQ ID NO: 629 (Kabat)	HCDR2	agaatcgaccctaatagcggctctactaagtataacgagaagtttaagaat
SEQ ID NO: 630 (Kabat)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
SEQ ID NO: 631 (Chothia)	HCDR1	ggctacaccttcactagctac
SEQ ID NO: 632 (Chothia)	HCDR2	gaccctaatagcggctct
SEQ ID NO: 630 (Chothia)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac

LC BAP058 клона N		
SEQ ID NO: 633 (Kabat)	LCDR1	aaagcctctcaggacgtgggcaccgccgtggcc
SEQ ID NO: 634 (Kabat)	LCDR2	tgggcctctactagacacacc
SEQ ID NO: 635 (Kabat)	LCDR3	cagcagtataatagctacccccctgacc
SEQ ID NO: 636 (Chothia)	LCDR1	tctcaggacgtgggcaccgcc
SEQ ID NO: 637 (Chothia)	LCDR2	tgggcctct
SEQ ID NO: 638 (Chothia)	LCDR3	tataatagctacccccctg

Другие иллюстративные ингибиторы PD-L1

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 представляет собой атезолизумаб (Genentech/Roche), также известный как MPDL3280A, RG7446, RO5541267, YW243.55.S70 или TECENTRIQ™. Атезолизумаб и другие антитела к PD-L1 раскрыты в US 8217149, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи атезолизумаба, например, раскрытые в таблице 6.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 представляет собой авелумаб (Merck Serono и Pfizer), также известный как MSB0010718C или Bavencio®. Авелумаб и другие антитела к PD-L1 раскрыты в WO 2013/079174, включенной посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи авелумаба, например, раскрытые в таблице 6.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 представляет собой дурвалумаб (MedImmune/AstraZeneca), также известный как MEDI4736 или Imfinzi®. Дурвалумаб и другие антитела к PD-L1 раскрыты в US 8779108, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи дурвалумаба,

например, раскрытые в таблице 6.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 представляет собой BMS-936559 (Bristol-Myers Squibb), также известный как MDX-1105 или 12A4. BMS-936559 и другие антитела к PD-L1 раскрыты в US 7943743 и WO 2015/081158, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BMS-936559, например, раскрытые в таблице 6.

Дополнительные известные антитела к PD-L1 включают антитела, описанные, например, в WO 2015/181342, WO 2014/100079, WO 2016/000619, WO 2014/022758, WO 2014/055897, WO 2015/061668, WO 2013/079174, WO 2012/145493, WO 2015/112805, WO 2015/109124, WO 2015/195163, US 8168179, US 8552154, US 8460927 и US 9175082, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом в PD-L1, что и одно из антител к PD-L1, описанных в данном документе.

Таблица 6. Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антител к PD-L1

Атезолизумаб		
SEQ ID NO: 639	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 640	Легкая цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE

		QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
Авелумаб		
SEQ ID NO: 641	Тяжелая цепь	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQ APGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 642	Легкая цепь	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQ HPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGL QAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVLGQPKANPTV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV KAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS
Дурвалумаб		
SEQ ID NO: 643	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQ APGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE

		ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 644	Легкая цепь	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
BMS-936559		
SEQ ID NO: 645	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTSGDTFSTYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGKAHYAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVWGQGTT VTVSS
SEQ ID NO: 646	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIK

В одном варианте осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с по меньшей мере одним ингибитором PD-L1, описанным в данном документе, и по меньшей мере одним антагонистом рецептора A2A, описанным в данном документе.

Ингибиторы LAG-3

В определенных вариантах осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором LAG-3. Ингибитор LAG-3 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 выбран из LAG525 (Novartis), BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), TSR-033 (Tesaro), MK-4280 (Merck & Co) или REGN3767 (Regeneron).

Иллюстративные ингибиторы LAG-3

В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой молекулу антитела к LAG-3. В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой молекулу антитела к LAG-3, раскрытую в US 2015/0259420, опубликованной 17 сентября 2015 г. под названием "Antibody Molecules to LAG-3 and Uses Thereof", включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть областей, определяющих комплементарность (CDR) (или в совокупности все CDR), из вариабельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в таблице 7 (например, из последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой

цепей BAP050 клона I или BAP050 клона J, раскрытых в таблице 7), или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 7. В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Kabat (например, как изложено в таблице 7). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Chothia (например, как изложено в таблице 7). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно комбинации определений CDR как по Kabat, так и по Chothia (например, как изложено в таблице 7). В одном варианте осуществления CDR1 VH согласно комбинированной схеме нумерации CDR по Kabat и Chothia содержит аминокислотную последовательность GFTLTNYGMN (SEQ ID NO: 766). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций, по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в таблице 7 или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 7.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 701, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 702 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 703; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 710, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 711 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 712, каждая из которых раскрыта в таблице 7.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VH, содержащую VHCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 736 или 737, VHCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 738 или 739, и VHCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 740 или 741; и VL, содержащую VLCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 746 или 747, VLCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 748 или 749, и VLCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 750 или 751, каждая из которых раскрыта в таблице 7. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VH, содержащую VHCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 758 или 737, VHCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 759 или 739, и VHCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 760 или 741; и VL, содержащую VLCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 746 или 747, VLCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 748 или 749, и VLCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 750 или 751, каждая из которых раскрыта в таблице 7.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VH,

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 706 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 706. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 718 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 718. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 724 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 724. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 730 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 730. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 706, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 718. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 724, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 730.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 707 или 708 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 707 или 708. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 719 или 720 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 719 или 720. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 725 или 726 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 725 или 726. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 731 или 732 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 731 или 732. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 707 или 708, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 719 или 720. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 725 или 726, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 731 или 732.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит тяжелую

цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 709 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 709. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 721 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 721. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 727 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 727. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 733 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 733. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 709, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 721. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 727, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 733.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 716 или 717 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 716 или 717. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 722 или 723 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 722 или 723. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 728 или 729 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 728 или 729. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 734 или 735 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 734 или 735. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 716 или 717, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 722 или 723. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 728 или 729, и легкую цепь, кодируемую

нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 734 или 735.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в US 2015/0259420, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 7. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антител к LAG-3

HC BAP050 клона I		
SEQ ID NO: 701 (Kabat)	HCDR1	NYGMN
SEQ ID NO: 702 (Kabat)	HCDR2	WINTDTGEPTYADDFKG
SEQ ID NO: 703 (Kabat)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 704 (Chothia)	HCDR1	GFTLTNY
SEQ ID NO: 705 (Chothia)	HCDR2	NTDTGE
SEQ ID NO: 703 (Chothia)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO:706	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGM NWVRQARGQRLEWIGWINTDTGEPTYADDFKGRF VFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 707	ДНК, кодирующая VH	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGAGCCGAAGTG AAGAAGCCTGGAGCCTCGGTGAAGGTGTCGTGC AAGGCATCCGGATTCACCCTCACCAATTACGGGA TGAACTGGGTCAGACAGGCCCGGGGTCAACGGC TGGAGTGGATCGGATGGATTAACACCGACACCG GGGAGCCTACCTACGCGGACGATTTCAAGGGAC GGTTCGTGTTCTCCCTCGACACCTCCGTGTCCACC GCCTACCTCCAAATCTCCTCACTGAAAGCGGAGG ACACCGCCGTGTACTATTGCGCGAGGAACCCGCC CTACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCCAT GGACTACTGGGGCCAGGGCACCACTGTGACTGT GTCCAGC

SEQ ID NO: 708	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCA AGGCCTCTGGCTTCACCCTGACCAACTACGGCAT GAACTGGGTGCGACAGGCCAGGGGCCAGCGGCT GGAATGGATCGGCTGGATCAACACCGACACCGG CGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAG ATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCACC GCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCC TTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATG GACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGT CCTCT
SEQ ID NO: 709	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGM NWVRQARGQRLEWIGWINTDTGEPTYADDFKGRF VFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 716	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGAGCCGAAGTG AAGAAGCCTGGAGCCTCGGTGAAGGTGTCGTGC AAGGCATCCGGATTCACCCTCACCAATTACGGGA TGAACTGGGTCAGACAGGCCCGGGGTCAACGGC TGGAGTGGATCGGATGGATTAACACCGACACCG GGGAGCCTACCTACGCGGACGATTTCAAGGGAC GGTTCGTGTTCTCCCTCGACACCTCCGTGTCCACC GCCTACCTCCAAATCTCCTCACTGAAAGCGGAGG ACACCGCCGTGTACTATTGCGCGAGGAACCCGCC CTACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCCAT

		GGACTACTGGGGCCAGGGCACCACTGTGACTGT GTCCAGCGCGTCCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTC CCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAAT CCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTA CTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGC GGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCG CTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTC GTCGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGT ACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAG CCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAAT CGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGC GCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTG TTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTT CCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGA CGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAA TTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAACGCC AAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCC ACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGC ATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGT GCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAAT CGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCC CCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAGC CAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTG ACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATA TCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGG AAAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGG ACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCT GACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAA TGTGTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTG CACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCT CCCTGGGA
SEQ ID NO: 717	ДНК, кодирующая тяжелу	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCA AGGCCTCTGGCTTCACCCTGACCAACTACGGCAT GAACTGGGTGCGACAGGCCAGGGGCCAGCGGCT

	ю цепь	GGAATGGATCGGCTGGATCAACACCGACACCGG CGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAG ATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCACC GCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCC TTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATG GACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGT CCTCTGCTTCTACCAAGGGGCCCAGCGTGTTCCC CCTGGCCCCCTGCTCCAGAAGCACCAGCGAGAG CACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTAC TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC CGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGA GAGCAAGTACGGCCCACCCTGCCCCCCCTGCCCA GCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCC TGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGAT CAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGT GGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTTTAA CAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTAC AAGTGTAAGGTCTCCAACAAGGGCCTGCCAAGC AGCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGC CAGCCTAGAGAGCCCCAGGTCTACACCCTGCCAC CCAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAAG CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGT GCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC AGGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGGAG GGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG

		CCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGA GCCTGTCCCTGGGC
LC BAP050 клона I		
SEQ ID NO: 710 (Kabat)	LCDR1	SSSQDISNYLN
SEQ ID NO: 711 (Kabat)	LCDR2	YTSTLHL
SEQ ID NO: 712 (Kabat)	LCDR3	QQYYNLPWT
SEQ ID NO: 713 (Chothia)	LCDR1	SQDISNY
SEQ ID NO: 714 (Chothia)	LCDR2	YTS
SEQ ID NO: 715 (Chothia)	LCDR3	YYNLPW
SEQ ID NO: 718	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWY LQKPGQSPQLLIYYTSTLHLGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDDFATYYCQQYYNLPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 719	ДНК, кодирующая VL	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAATCACCTCAGC TGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGGG CGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGC ACCGAGTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGC CCGACGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGTA CTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 720	ДНК, кодирующая VL	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC TGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCTCAGC TGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGG CGTGCCCTCCAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGC

		ACCGAGTTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGC CCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTA CTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 721	Легкая цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWY LQKPGQSPQLLIYYTSTLHLGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDDFATYYCQQYYNLPWTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 722	ДНК, кодирующая легкую цепь	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAATCACCTCAGC TGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGGG CGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGC ACCGAGTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGC CCGACGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGTA CTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCA GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
SEQ ID NO: 723	ДНК, кодирующая легкую цепь	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC TGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCTCAGC TGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGG

		CGTGCCCTCCAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGC ACCGAGTTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGC CCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTA CTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCAAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCT GAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCA GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTG TACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
HC BAP050 клона J		
SEQ ID NO: 701 (Kabat)	HCDR1	NYGMN
SEQ ID NO: 702 (Kabat)	HCDR2	WINTDTGEPTYADDFKG
SEQ ID NO: 703 (Kabat)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 704 (Chothia)	HCDR1	GFTLTNY
SEQ ID NO: 705 (Chothia)	HCDR2	NTDTGE
SEQ ID NO: 703 (Chothia)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 724	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGM NWVRQAPGQGLEWMGWINTDTGEPTYADDFKGR FVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 725	ДНК, кодиру	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTCAGCTGT

	ющая VH	AAAGCTAGTGGCTTCACCCTGACTAACTACGGGA TGAACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCCT CGAGTGGATGGGCTGGATTAACACCGACACCGG CGAGCCTACCTACGCCGACGACTTTAAGGGCAG ATTCGTGTTTAGCCTGGACACTAGTGTGTCTACC GCCTACCTGCAGATCTCTAGCCTGAAGGCCGAGG ACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAAACCCCCC CTACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTATG GACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGT CTAGC
SEQ ID NO: 726	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCA AGGCCTCTGGCTTCACCCTGACCAACTACGGCAT GAACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAGGGCCT GGAATGGATGGGCTGGATCAACACCGACACCGG CGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAG ATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCACC GCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCC TTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATG GACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGT CCTCT
SEQ ID NO: 727	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGM NWVRQAPGQGLEWMGWINTDTGEPTYADDFKGR FVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 728	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTCAGCTGT AAAGCTAGTGGCTTCACCCTGACTAACTACGGGA TGAACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCCT CGAGTGGATGGGCTGGATTAACACCGACACCGG CGAGCCTACCTACGCCGACGACTTTAAGGGCAG ATTCGTGTTTAGCCTGGACACTAGTGTGTCTACC GCCTACCTGCAGATCTCTAGCCTGAAGGCCGAGG ACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAAACCCCCC CTACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTATG GACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGT CTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCC CCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCC ACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACT TCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGG AGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCT GTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGT CGGTGGTCACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTAC CAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCT TCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCG AAGTACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGC CGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTC CCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCC GCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGT GTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTG GTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAA AACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCAC TTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCAT CAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCG AAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGAGCC AGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGA CTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATAT CGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGA

		AAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGA CTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTG ACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAAT GTGTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGC ACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTC CCTGGGA
SEQ ID NO: 729	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCA AGGCCTCTGGCTTCACCCTGACCAACTACGGCAT GAACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAGGGCCT GGAATGGATGGGCTGGATCAACACCGACACCGG CGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAG ATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCACC GCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAGG ATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCCC TTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCATG GACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGT CCTCTGCTTCTACCAAGGGGCCCAGCGTGTTCCC CCTGGCCCCCTGCTCCAGAAGCACCAGCGAGAG CACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTAC TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGC CGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGA GAGCAAGTACGGCCCACCCTGCCCCCCCTGCCCA GCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCC TGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGAT CAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGT GGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTTTAA CAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTAC

		AAGTGTAAGGTCTCCAACAAGGGCCTGCCAAGC AGCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGC CAGCCTAGAGAGCCCCAGGTCTACACCCTGCCAC CCAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAAG CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGT GCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC AGGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGGAG GGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG CCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGA GCCTGTCCCTGGGC
LC BAP050 клона J		
SEQ ID NO: 710 (Kabat)	LCDR1	SSSQDISNYLN
SEQ ID NO: 711 (Kabat)	LCDR2	YTSTLHL
SEQ ID NO: 712 (Kabat)	LCDR3	QQYYNLPWT
SEQ ID NO: 713 (Chothia)	LCDR1	SQDISNY
SEQ ID NO: 714 (Chothia)	LCDR2	YTS
SEQ ID NO: 715 (Chothia)	LCDR3	YYNLPW
SEQ ID NO: 730	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYYTSTLHLGIPPRFSGSGYGTDFT LTINNIESEDAAYYFCQQYYNLPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 731	ДНК, кодирующая VL	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAG CTGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGG GAATCCCCCCTAGGTTTAGCGGTAGCGGCTACGG

		CACCGACTTCACCCTGACTATTAACAATATCGAG TCAGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGTCAGCAGT ACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCAC TAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 732	ДНК, кодирующая VL	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAG CTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGG GCATCCCCCCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTACGG CACCGACTTCACCCTGACCATCAACAACATCGAG TCCGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGCCAGCAGT ACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 733	Легкая цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYYTSTLHLGIPPRFSGSGYGTDFT LTINNIESEDAAYYFCQQYYNLPWTFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
SEQ ID NO: 734	ДНК, кодирующая легкую цепь	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAG CTGCTGATCTACTACACTAGCACCCTGCACCTGG GAATCCCCCCTAGGTTTAGCGGTAGCGGCTACGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAACAATATCGAG TCAGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGTCAGCAGT ACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCAC TAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCT GAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCA GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA

		CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
SEQ ID NO: 735	ДНК, кодирующая легкую цепь	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAG CTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGG GCATCCCCCCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTACGG CACCGACTTCACCCTGACCATCAACAACATCGAG TCCGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGCCAGCAGT ACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCC CAGCGTGTTCATCTTCCCCCCAAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGC TGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGC AGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCA ACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGAC CCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCC AGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAG TGC
HC BAP050 клона I		
SEQ ID NO: 736 (Kabat)	HCDR1	AATTACGGGATGAAC
SEQ ID NO: 737 (Kabat)	HCDR1	AACTACGGCATGAAC
SEQ ID NO: 738 (Kabat)	HCDR2	TGGATTAACACCGACACCGGGGAGCCTACCTAC GCGGACGATTTCAAGGGA
SEQ ID NO: 739	HCDR2	TGGATCAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTAC

(Kabat)		GCCGACGACTTCAAGGGC
SEQ ID NO: 740 (Kabat)	HCDR3	AACCCGCCCTACTACTACGGAACCAACAACGCC GAAGCCATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Kabat)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
SEQ ID NO: 742 (Chothia)	HCDR1	GGATTCACCCTCACCAATTAC
SEQ ID NO: 743 (Chothia)	HCDR1	GGCTTCACCCTGACCAACTAC
SEQ ID NO: 744 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGGGAG
SEQ ID NO: 745 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGCGAG
SEQ ID NO: 740 (Chothia)	HCDR3	AACCCGCCCTACTACTACGGAACCAACAACGCC GAAGCCATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Chothia)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
LC BAP050 клона I		
SEQ ID NO: 746 (Kabat)	LCDR1	AGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 747 (Kabat)	LCDR1	TCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 748 (Kabat)	LCDR2	TACACTAGCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 749 (Kabat)	LCDR2	TACACCTCCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 750 (Kabat)	LCDR3	CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 751 (Kabat)	LCDR3	CAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 752 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGGATATCTCTAACTAC
SEQ ID NO: 753 (Chothia)	LCDR1	AGCCAGGACATCTCCAACTAC

SEQ ID NO: 754 (Chothia)	LCDR2	TACACTAGC
SEQ ID NO: 755 (Chothia)	LCDR2	TACACCTCC
SEQ ID NO: 756 (Chothia)	LCDR3	TACTATAACCTGCCCTGG
SEQ ID NO: 757 (Chothia)	LCDR3	TACTACAACCTGCCCTGG
HC BAP050 клона J		
SEQ ID NO: 758 (Kabat)	HCDR1	AACTACGGGATGAAC
SEQ ID NO: 737 (Kabat)	HCDR1	AACTACGGCATGAAC
SEQ ID NO: 759 (Kabat)	HCDR2	TGGATTAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTACG CCGACGACTTTAAGGGC
SEQ ID NO: 739 (Kabat)	HCDR2	TGGATCAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTAC GCCGACGACTTCAAGGGC
SEQ ID NO: 760 (Kabat)	HCDR3	AACCCCCCCTACTACTACGGCACTAACAACGCCG AGGCTATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Kabat)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
SEQ ID NO: 761 (Chothia)	HCDR1	GGCTTCACCCTGACTAACTAC
SEQ ID NO: 743 (Chothia)	HCDR1	GGCTTCACCCTGACCAACTAC
SEQ ID NO: 744 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGGGAG
SEQ ID NO: 745 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGCGAG
SEQ ID NO: 760 (Chothia)	HCDR3	AACCCCCCCTACTACTACGGCACTAACAACGCCG AGGCTATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Chothia)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
LC BAP050 клона J		

SEQ ID NO: 746 (Kabat)	LCDR1	AGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 747 (Kabat)	LCDR1	TCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 748 (Kabat)	LCDR2	TACACTAGCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 749 (Kabat)	LCDR2	TACACCTCCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 750 (Kabat)	LCDR3	CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 751 (Kabat)	LCDR3	CAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 752 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGGATATCTCTAACTAC
SEQ ID NO: 753 (Chothia)	LCDR1	AGCCAGGACATCTCCAACTAC
SEQ ID NO: 754 (Chothia)	LCDR2	TACACTAGC
SEQ ID NO: 755 (Chothia)	LCDR2	TACACCTCC
SEQ ID NO: 756 (Chothia)	LCDR3	TACTATAACCTGCCCTGG
SEQ ID NO: 757 (Chothia)	LCDR3	TACTACAACCTGCCCTGG

Другие иллюстративные ингибиторы LAG-3

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), также известный как BMS986016. BMS-986016 и другие антитела к LAG-3 раскрыты в WO 2015/116539 и US 9505839, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BMS-986016, например, раскрытые в таблице 8.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой TSR-033 (Tesaro). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все

последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TSR-033.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой MK-4280 (Merck & Co). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи MK-4280.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой REGN3767 (Regeneron). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи REGN3767.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой IMP731 или GSK2831781 (GSK и Prima BioMed). IMP731 и другие антитела к LAG-3 раскрыты в WO 2008/132601 и US 9244059, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи IMP731, например, раскрытые в таблице 8. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи GSK2831781.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой IMP761 (Prima BioMed). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи IMP761.

Дополнительные известные антитела к LAG-3 включают антитела, описанные, например, в WO 2008/132601, WO 2010/019570, WO 2014/140180, WO 2015/116539, WO 2015/200119, WO 2016/028672, US 9244059, US 9505839, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к LAG-3 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом в LAG-3, что и одно из антител к LAG-3, описанных в данном документе.

В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой растворимый белок LAG-3, например, IMP321 (Prima BioMed), например, раскрытый в WO 2009/044273, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 8. Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антител к LAG-3

BMS-986016		
SEQ ID NO: 762	Тяжелая цепь	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWI RQPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRVTLSLDTSKN QFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 763	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
IMP731		
SEQ ID NO: 764	Тяжелая цепь	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTAYGVNWVR QPPGKGLEWLGMIWDDGSTDYNSALKSRLSISKDNSKS QVFLKMNSLQTDDTARYYCAREGDVAFDYWGQGTTL TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 765	Легкая цепь	DIVMTQSPSSLAVSVGQKVTMSCKSSQSLLNGSNQKNY LAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRDSGVPDRFIGSGSGTD

		FTLTISSVQAEDLADYFCLQHFGTPPTFGGGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Ингибиторы TIM-3

В определенных вариантах осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором TIM-3. Ингибитор TIM-3 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TIM-3 выбран из MBG453 (Novartis), TSR-022 (Tesaro) или LY3321367 (Eli Lilly).

Иллюстративные ингибиторы TIM-3

В одном варианте осуществления ингибитор TIM-3 представляет собой молекулу антитела к TIM-3. В одном варианте осуществления ингибитор TIM-3 представляет собой молекулу антитела к TIM-3, раскрытую в US 2015/0218274, опубликованной 6 августа 2015 г. под названием "Antibody Molecules to TIM-3 and Uses Thereof", включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть областей, определяющих комплементарность (CDR) (или в совокупности все CDR), из вариабельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в таблице 9 (например, из последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой цепей ABTIM3-hum11 или ABTIM3-hum03, раскрытых в таблице 9), или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 9. В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Kabat (например, как изложено в таблице 9). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Chothia (например, как изложено в таблице 9). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций, по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в таблице 9 или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 9.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 801, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 802 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 803; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 810, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 811 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ

ID NO: 812, каждая из которых раскрыта в таблице 9. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 801, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 820 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 803; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 810, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 811 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 812, каждая из которых раскрыта в таблице 9.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 806 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 806. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 816 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 816. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 822 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 822. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 826 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 826. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 806, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 816. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 822, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 826.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 807 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 807. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 817 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 817. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 823 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 823. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую

нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 827 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 827. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 807, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 817. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 823, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 827.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 808 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 808. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 818 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 818. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 824 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 824. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 828 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 828. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 808, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 818. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 824, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 828.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 809 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 809. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 819 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 819. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 825 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 825. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 829 или нуклеотидной

последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 829. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 809, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 819. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 825, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 829.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в US 2015/0218274, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 9. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антител к TIM-3

ABTIM3-hum11		
SEQ ID NO: 801 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 802 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 803 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 804 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 805 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 803 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 806	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYN MHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKFK GRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARV GGAFPMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 807	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTTTCTTG TAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAA TATGCACTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAAGG CCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCCGGGAA CGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGG TAGAGTCACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG

		CACCGTCTATATGGAACTGAGTTCCCTGAGGTC TGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGT GGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTACTGGGGTCA AGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 808	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYN MHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKFK GRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARV GGAFPMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLG
SEQ ID NO: 809	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTTTCTTG TAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAA TATGCACTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAAGG CCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCCGGGAA CGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGG TAGAGTCACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAG CACCGTCTATATGGAACTGAGTTCCCTGAGGTC TGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGT GGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTACTGGGGTCA AGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCAC TAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTG TAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCT CGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCC CGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGAC CTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCA GAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGT

		CACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGAC CTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAA CACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGT ACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGG AGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCC ACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCG CACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGT GTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTG GTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCA AAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCC ACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTG CATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAA GTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTC AATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGAC AGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCAC CGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTC TCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCAT CGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCC AGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCCTCCG GTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCTGTGATGCAT GAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCC CTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 810 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 811 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 812 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 813 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 814 (Chothia)	LCDR2	AAS

SEQ ID NO: 815 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 816	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSL MQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO: 817	ДНК, кодирующая VL	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTG AGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACC TGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGC ACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCC GGGAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCC TCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTG ACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCT ACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCT AGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATT AAG
SEQ ID NO: 818	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSL MQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
SEQ ID NO: 819	ДНК, кодирующая легкую цепь	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTG AGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACC TGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGC ACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCC GGGAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCC TCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTG ACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCT ACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCT AGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATT

		AAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATC TTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGC ACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTC TACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGG AGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum03		
SEQ ID NO: 801 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 820 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 803 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 804 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 821 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 803 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 822	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYN MHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQGDTSYNQKFKG RATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARV GGAFPMDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 823	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCT GTAAAGCTAGTGGCTATACTTTCACTTCTTATAA TATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGG CCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGTCA AGGCGACACTTCCTATAATCAGAAGTTTAAGGG TAGAGCTACTATGACCGCCGATAAGTCTACTTC

		TACCGTCTATATGGAACTGAGTTCCCTGAGGTC TGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGT GGGCGGAGCCTTCCCAATGGACTACTGGGGTCA AGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 824	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYN MHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQGDTSYNQKFKG RATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARV GGAFPMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLG
SEQ ID NO: 825	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGT GAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCT GTAAAGCTAGTGGCTATACTTTCACTTCTTATAA TATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGG CCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGTCA AGGCGACACTTCCTATAATCAGAAGTTTAAGGG TAGAGCTACTATGACCGCCGATAAGTCTACTTC TACCGTCTATATGGAACTGAGTTCCCTGAGGTC TGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGT GGGCGGAGCCTTCCCAATGGACTACTGGGGTCA AGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCAC TAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTG TAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCT CGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCC CGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGAC CTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCA GAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGT

		CACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGAC CTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAA CACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGT ACGGCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGG AGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCC ACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCG CACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGT GTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTG GTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCA AAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCC ACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTG CATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAA GTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTC AATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGAC AGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCAC CGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTC TCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCAT CGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCC AGCCGGAAAACAACTACAAGACCACCCCTCCG GTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCTCTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTCAGCTGTTCTGTGATGCAT GAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCC CTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 810 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 811 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 812 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 813 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 814 (Chothia)	LCDR2	AAS

SEQ ID NO: 815 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 826	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSL MQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 827	ДНК, кодирующая VL	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTG GCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTAAC TGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGC ACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCC GGTCAACCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCC TCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTG ACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCC GTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCT AGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATT AAG
SEQ ID NO: 828	Легкая цепь	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSL MQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
SEQ ID NO: 829	ДНК, кодирующая легкую цепь	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTG GCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTAAC TGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGC ACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCC GGTCAACCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCC TCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTT AGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTG ACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCC GTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCT AGCACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATT

		AAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATC TTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGC ACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTC TACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGG AGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

Другие иллюстративные ингибиторы TIM-3

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 представляет собой TSR-022 (AnaptysBio/Tesaro). В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TSR-022. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи APE5137 или APE5121, например, раскрытые в таблице 10. APE5137, APE5121 и другие антитела к TIM-3 раскрыты в WO 2016/161270, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 представляет собой LY3321367 (Eli Lilly). В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи LY3321367.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 представляет собой антитело клона F38-2E2. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи F38-2E2.

Дополнительные известные антитела к TIM-3 включают антитела, описанные, например, в WO 2016/111947, WO 2016/071448, WO 2016/144803, US 8552156, US 8841418 и US 9163087, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к TIM-3 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом в TIM-3, что и одно из антител к TIM-3, описанных в данном документе.

Таблица 10. Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антител к TIM-3

APE5137		
SEQ ID NO: 830	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVR QAPGKGLDWVSTISGGGTYTYYQDSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMDYWGQGTTVTVSSA
SEQ ID NO: 831	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRRYLNWYHQKP GKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFAVYYCQQSHSAPLTFGGGTKVEIKR
APE5121		
SEQ ID NO: 832	VH	EVQVLESGGGLVQPGGSLRLYCVASGFTFSGSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKKYYVGPADYWGQGTL VTVSSG
SEQ ID NO: 833	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQHKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCQQYYSSPLTFGGGTKIEVK

Ингибиторы CTLA-4

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором CTLA-4. Ингибитор CTLA-4 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (Yervoy®, Bristol-Myers Squibb) или тремелимумаб (Pfizer). Антитело ипилимумаб и другие антитела к CTLA-4 раскрыты в US 6984720, включенном в данный документ посредством ссылки. Антитело тремелимумаб и другие антитела к CTLA-4 раскрыты в US 7411057, включенном в данный документ посредством ссылки.

Агонисты GITR

В определенных вариантах осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с агонистом GITR. Агонист GITR может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления агонист GITR представляет собой GWN323 (Novartis), BMS-986156 (BMS), MK-4166 или MK-1248 (Merck), TRX518 (Leap Therapeutics), INCAGN1876 (Incyte/Agenus), AMG 228 (Amgen) или INBRX-110 (Inhibrx).

Иллюстративные молекулы антител к GITR

В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой молекулу

антитела к GITR. В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой молекулу антитела к GITR, описанную в WO 2016/057846, опубликованной 14 апреля 2016 г. под названием "Compositions and Methods of Use for Augmented Immune Response and Cancer Therapy", включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть областей, определяющих комплементарность (CDR) (или в совокупности все CDR), из вариабельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в таблице 11 (например, из последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой цепей MAB7, раскрытых в таблице 11), или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 11. В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Kabat (например, как изложено в таблице 11). В некоторых вариантах осуществления CDR указаны согласно определению по Chothia (например, как изложено в таблице 11). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций, по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в таблице 11 или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в таблице 11.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 909, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 911 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 913; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 914, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 916 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 918, каждая из которых раскрыта в таблице 11.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 901 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 901. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 902 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 902. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 901, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 902.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 905 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 905. В одном варианте осуществления молекула

антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 906 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 906. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 905, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 906.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 903 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 903. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 904 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 904. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 903, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 904.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 907 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 907. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 908 или нуклеотидной последовательностью, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или больше идентичной по отношению к SEQ ID NO: 908. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 907, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 908.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в WO 2016/057846, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 11. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративной молекулы антитела к GITR

MAB7		
SEQ ID NO: 901	VH	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFSLSSYGV DWVRQAPGKGLEWVGVIWGGGGTYYASSLMG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARH AYGHDGGFAMDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 902	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASESVSSNVA WYQQRPGQAPRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCGQSYSYPFTFGQGT KLEIK
SEQ ID NO: 903	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFSLSSYGV DWVRQAPGKGLEWVGVIWGGGGTYYASSLMG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARH AYGHDGGFAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 904	Легкая цепь	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASESVSSNVA WYQQRPGQAPRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCGQSYSYPFTFGQGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 905	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACT GGTGCAGTCCGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTT GCGCTGCCTCCGGCTTCTCCCTGTCCTCTTACG GCGTGGACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAG GGCCTGGAATGGGTGGGAGTGATCTGGGGCG GAGGCGGCACCTACTACGCCTCTTCCCTGATG GGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACAACTCCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC AGACACGCCTACGGCCACGACGGCGGCTTCGC CATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGA CAGTGTCCTCC
SEQ ID NO: 906	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGCCACCCT GTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGA GCTGCAGAGCCTCCGAGTCCGTGTCCTCCAAC GTGGCCTGGTATCAGCAGAGACCTGGTCAGGC CCCTCGGCTGCTGATCTACGGCGCCTCTAACC GGGCCACCGGCATCCCTGCCAGATTCTCCGGC TCCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCAT CTCCCGGCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCGGCCAGTCCTACTCATACCCCTTCA CCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG

SEQ ID NO: 907	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACT GGTGCAGTCCGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTT GCGCTGCCTCCGGCTTCTCCCTGTCCTCTTACG GCGTGGACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAG GGCCTGGAATGGGTGGGAGTGATCTGGGGCG GAGGCGGCACCTACTACGCCTCTTCCCTGATG GGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACAACTCCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC AGACACGCCTACGGCCACGACGGCGGCTTCGC CATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGA CAGTGTCCTCCGCTAGCACCAAGGGCCCAAGT GTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTAC TTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGG TGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTG TCCTGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTG CCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTG CGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCAG CTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTC CTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGAT GATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGG TGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTG AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAG CAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACG GCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAA GGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCA GGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTG GTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAAC AACTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAG

SEQ ID NO: 908	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGCCACCCT GTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCCACCCTGA GCTGCAGAGCCTCCGAGTCCGTGTCCTCCAAC GTGGCCTGGTATCAGCAGAGACCTGGTCAGGC CCCTCGGCTGCTGATCTACGGCGCCTCTAACC GGGCCACCGGCATCCCTGCCAGATTCTCCGGC TCCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCAT CTCCCGGCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCGGCCAGTCCTACTCATACCCCTTCA CCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG CGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTC CCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCA CCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTC TACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGG TGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGAC TCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCT GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTC CAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
SEQ ID NO: 909 (KABAT)	HCDR1	SYGVD
SEQ ID NO: 910 (CHOTHIA)	HCDR1	GFSLSSY
SEQ ID NO: 911 (KABAT)	HCDR2	VIWGGGGTYYASSLMG
SEQ ID NO: 912 (CHOTHIA)	HCDR2	WGGGG
SEQ ID NO: 913 (KABAT)	HCDR3	HAYGHDGGFAMDY
SEQ ID NO: 913 (CHOTHIA)	HCDR3	HAYGHDGGFAMDY

SEQ ID NO: 914 (KABAT)	LCDR1	RASESVSSNVA
SEQ ID NO: 915 (CHOTHIA)	LCDR1	SESVSSN
SEQ ID NO: 916 (KABAT)	LCDR2	GASNRAT
SEQ ID NO: 917 (CHOTHIA)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 918 (KABAT)	LCDR3	GQSYSYPFT
SEQ ID NO: 919 (CHOTHIA)	LCDR3	SYSYPF

Другие иллюстративные антитела к GITR и агонисты GITR

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой BMS-986156 (Bristol-Myers Squibb), также известный как BMS 986156 или BMS986156. BMS-986156 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 9228016 и WO 2016/196792, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BMS-986156, например, раскрытые в таблице 12.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой MK-4166 или MK-1248 (Merck). MK-4166, MK-1248 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 8709424, WO 2011/028683, WO 2015/026684 и Mahne et al. Cancer Res. 2017; 77(5):1108-1118, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи MK-4166 или MK-1248.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой TRX518 (Leap Therapeutics). TRX518 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 7812135, US 8388967, US 9028823, WO 2006/105021 и Ponte J et al. (2010) Clinical Immunology; 135:S96, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TRX518.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой INCAGN1876 (Incyte/Agenus). INCAGN1876 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 2015/0368349 и WO 2015/184099, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи INCAGN1876.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой AMG 228 (Amgen). AMG 228 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 9464139 и WO 2015/031667, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи AMG 228.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой INBRX-110 (Inhibrx). INBRX-110 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 2017/0022284 и WO 2017/015623, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления агонист GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи INBRX-110.

В одном варианте осуществления агонист GITR (например, слитый белок) представляет собой MEDI 1873 (MedImmune), также известный как MEDI1873. MEDI 1873 и другие агонисты GITR раскрыты, например, в US 2017/0073386, WO 2017/025610 и Ross et al. Cancer Res 2016; 76(14 Suppl): Abstract № 561, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления агонист GITR содержит один или несколько из Fc-домена IgG, функционального мультимеризационного домена и рецепторсвязывающего домена лиганда глюкокортикоид-индуцируемого рецептора TNF (GITRL) в MEDI 1873.

Дополнительные известные агонисты GITR (например, антитела к GITR) включают агонисты, описанные, например, в WO 2016/054638, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к GITR представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом в GITR, что и одно из антител к GITR, описанных в данном документе.

В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой пептид, который активирует сигнальный путь GITR. В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой связывающий фрагмент иммуноадгезина (например, связывающий фрагмент иммуноадгезина, содержащий внеклеточную или GITR-связывающую часть GITRL), слитый с константной областью (например, Fc-областью

последовательности иммуноглобулина).

Таблица 12. Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антител к GITR

BMS-986156		
SEQ ID NO: 920	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRG DYYYGMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 921	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIK

Иллюстративные молекулы полиспецифических антител к CD3

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с молекулой полиспецифического антитела к CD3 (например, молекулой биспецифического антитела к CD3). В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела к CD3 связывается с CD3 и опухолевым антигеном-мишенью (TTA). В одном варианте осуществления TTA выбран из CD19, CD20, CD38 или CD123. В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела к CD3 представлена в формате, раскрытом на фиг. 1A, 1B, 1C и 125 в WO 2016/182751, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела к CD3 представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3 x CD123, например, XENP14045 (например, как изложено в таблице 15), или молекулу биспецифического антитела к CD3 x CD123, раскрытую в WO 2016/086189 или WO 2016/182751, включенных в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула биспецифического антитела к CD3 x CD123 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи XENP14045 или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности по отношению к ним).

В одном варианте осуществления полиспецифическое антитело к CD3 представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3 x CD20, например, XENP13676 (например, как изложено в таблице 13) или молекулу биспецифического антитела к CD3 x CD20, раскрытую в WO 2016/086189 или WO 2016/182751, включенных в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула биспецифического антитела к CD3 x CD20 содержит одну или

несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи XENP13676 или аминокислотную последовательность, по существу идентичную им (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности по отношению к ним).

Таблица 13. Аминокислотные последовательности иллюстративных молекул биспецифических антител к CD3

XENP14045 (Fab-scFv-Fc антитела к CD123 x CD3)		
SEQ ID NO: 314	Тяжелая цепь 1 (Fab-Fc антитела к CD123)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMK WVKQSHGKSLEWMGDIIPSNGATFYNQKFKGKATL TVDRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSHLLRASW FAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 315	Тяжелая цепь 2 (scFv-Fc антитела к CD3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNW VRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFT ISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS YVSWFAYWGQGTLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGK PGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTK LTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ

		MTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 316	Легкая цепь	DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNTGNQK NYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYSYPYTFGGGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
XENP13676 (Fab-scFv-Fc антитела к CD20 x CD3)		
SEQ ID NO: 317	Тяжелая цепь 1 (Fab-Fc)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMH WVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTI TADKSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDW YFNVWGAGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 318	Тяжелая цепь 2 (scFv-Fc)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNW VRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFT ISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS YVSWFAYWGQGTLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGK PGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTK LTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT

		LMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ MTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 319	Легкая цепь	QIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYIHWFQQK PGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISS LQPEDFATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Комплексы IL15/IL-15Ra

В определенных вариантах осуществления антитело к ENTPD2 человека, описанное в данном документе, вводят в комбинации с комплексом IL-15/IL-15Ra. В некоторых вариантах осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra выбран из NIZ985 (Novartis), ATL-803 (Altor) или CYP0150 (Cytune).

Иллюстративные комплексы IL-15/IL-15Ra

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит IL-15 человека в комплексе с растворимой формой IL-15Ra человека. Комплекс может содержать IL-15, ковалентно или нековалентно связанный с растворимой формой IL-15Ra. В конкретном варианте осуществления IL-15 человека нековалентно связан с растворимой формой IL-15Ra. В конкретном варианте осуществления IL-15 человека в композиции содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1001 из таблицы 14, а растворимая форма IL-15Ra человека содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1002 из таблицы 14, описанные в WO 2014/066527, включенной посредством ссылки во всей своей полноте. Молекулы, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в WO 2007/084342, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 14. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных комплексов IL-15/IL-15Ra

NIZ985		
SEQ ID NO: 1001	IL-15 человека	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGN VTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
SEQ ID NO: 1002	Растворимый IL-15Ra	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGT SSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPS

	человека	TVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVP GSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTA SASHQPPGVYPQG

Другие иллюстративные комплексы IL-15/IL-15Ra

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra представляет собой ALT-803 - слитый белок на основе IL-15/IL-15Ra и Fc (растворимый комплекс IL-15N72D:IL-15RaSu/Fc). ALT-803 раскрыт в WO 2008/143794, включенной посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления слитый белок на основе IL-15/IL-15Ra и Fc содержит последовательности, раскрытые в таблице 15.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит IL-15, слитый с доменом Sushi IL-15Ra (CYP0150, Cytune). Домен Sushi IL-15Ra относится к домену, начинающемуся с первого цистеинового остатка после сигнального пептида IL-15Ra и заканчивающемуся четвертым цистеиновым остатком после указанного сигнального пептида. Комплекс IL-15, слитого с доменом Sushi IL-15Ra, раскрыт в WO 2007/04606 и WO 2012/175222, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления слитый белок IL-15/домен Sushi IL-15Ra содержит последовательности, раскрытые в таблице 15.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит слитый белок на основе IL-15 и IL-15Ra, который может дополнительно содержать линкер, в частности глицин-сериновый линкер, соединяющий IL-15 и IL-15Ra, как раскрыто в WO 2014/186469 (Попечительский совет Системы университетов штата Техас), включенной посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления слитый белок IL-15/IL-15Ra содержит последовательности, раскрытые в таблице 15.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит слитый белок на основе домена Sushi IL-15Ra и IL-15, связанных глицин-сериновым линкером, как раскрыто в WO 2015/109124 (Kadmon Corp.), включенной посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления слитый белок IL-15/IL-15Ra содержит последовательности, раскрытые в таблице 15.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит слитый белок на основе IL-15, IL-15Ra, Fc-домена и RGD-пептида, предпочтительно в конфигурации полипептид RGD/Fc-домен/полипептид IL-15/полипептид IL-15Ra, как раскрыто в WO 2017/000913 (Numab Biopharmaceuticals), включенной посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления слитый белок RGD/Fc/IL-15/IL-15Ra содержит последовательность, раскрытую в таблице 15.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит гетеродимерный белок, содержащий IL-15, связанный с первым Fc-доменом, и IL-15Ra, связанный со вторым Fc-доменом. IL-15 представляет собой зрелую форму IL-15 человека, а IL-15Ra представляет собой внеклеточный домен IL-15Ra человека или его усеченный вариант, такой как IL-15Ra-Sushi. Два Fc-домена могут содержать мутации,

обеспечивающие образование гетеродимера посредством взаимодействий по типу "выступ во впадину", и иллюстративные конструкции раскрыты в WO 2015/103928 (Jiangsu Hendrui Medicine Co), включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит комбинацию из IL-15, содержащего аминокислотную мутацию по типу замены на Cys, и IL-15Ra (его внеклеточный домен или домен Sushi), содержащего мутацию по типу замены на Cys, способствующую образованию внутримолекулярных дисульфидных связей между полипептидами. Последовательности IL-15 и IL-15Ra с комбинациями мутаций раскрыты в WO 2016/095642 (Jiangsu Hendrui Medicine Co), включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит гетеродимерный белок, содержащий IL-15, связанный с первым Fc-доменом, и IL-15Ra, связанный со вторым Fc-доменом. Первый и второй Fc-домены могут иметь набор перечисленных аминокислотных замен: S267K/L368D/K370S: S267K/LS364K/E357Q; S364K/E357Q: L36HD/K370S; L36HD/K370S; S364K; L36HE/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q в соответствии с нумерацией EU и, кроме того, могут содержать дополнительные аминокислотные замены и замены для устранения связывания с Fc-гамма-рецептором, как раскрыто в WO 2018/071919 (Xencor, Inc.), включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 15. Аминокислотные последовательности других иллюстративных комплексов IL-15/IL-15Ra

ALT-803 (Altor)		
SEQ ID NO: 1003	IL-15N72D	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANDSLSSNGN VTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
SEQ ID NO: 1004	IL-15RaSu/Fc	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGT SSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIREPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Слитый белок IL-15/домен Sushi IL-15Ra (Cytune)		
SEQ ID NO:1005	IL-15 человека	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGN

		VTESGCKECEELEXKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS Где X представляет собой E или K
SEQ ID NO:1006	Домен Sushi и шарнирный домен IL-15Ra человека	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGT SSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPP
Слитый белок IL-15/IL-15Ra (Техасский университет)		
SEQ ID NO: 1007	Слитый белок IL-15/IL-15Ra с линкером Gly-Ser	MDWTWILFLVAAATRVHSNWVNVISDLKKIEDLIQSM HIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDAS IHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKE FLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GSLQITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKR KAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATT AAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNW ELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVS LLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDL ENCSHHLSRMDYKDDDDKDYKDDDDKDYKDDDDK
Слитый белок IL-15Ra/IL-15 (Kadmon Corp.)		
SEQ ID NO: 1008	Слитый белок Sushi-IL-15Ra/IL-15 с линкером Gly-Ser	CPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSS LTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSG GSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLIQSMH IDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASI HDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEF LQSFVHIVQMFINTS
Слитый белок RGD/Fc/IL-15/IL-15Ra (Numab Biopharmaceuticals)		
SEQ ID NO: 1009	RGD/Fc/IL-15/IL-15Ra	ACDCRGDCFCGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG

		SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGKGGGGSPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYIC NSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDP ALVHQRPAPPSTVSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCF LLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTES GCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

Иллюстративные средства, связывающие CSF-1/1R

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации со средством, связывающим CSF-1/1R.

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, является ингибитором макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF). M-CSF также иногда известен как CSF-1.

В другом варианте осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2005/073224, которые являются ингибиторами тирозинкиназы CSF-1R. В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой соединение A33 или средство, связывающее CSF-1, раскрытое в PCT-публикации № WO 2004/045532 или PCT-публикации № WO 2005/068503, в том числе RX1 или 5H4, которые являются ингибиторами M-CSF (например, молекулу или Fab-фрагмент антитела к M-CSF).

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, является ингибитором CSF1R или 4-(2-((1R,2R)-2-гидроксициклогексиламино)бензотиазол-6-илокси)-N-метилпиколинамидом. 4-(2-((1R,2R)-2-гидроксициклогексиламино)бензотиазол-6-илокси)-N-метилпиколинамид раскрыт как пример 157 на странице 117 PCT-публикации № WO 2007/121484.

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой пексидартиниб (регистрационный номер CAS 1029044-16-3). Пексидартиниб также известен как PLX3397 или 5-((5-хлор-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)метил)-N-((6-(трифторметил)пиридин-3-ил)метил)пиридин-2-амин. Пексидартиниб является низкомолекулярным ингибитором рецепторных тирозинкиназ (RTK) KIT, CSF1R и FLT3.

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой эмактузумаб. Эмактузумаб также известен как RG7155 или RO5509554. Эмактузумаб представляет собой гуманизированное антитело mAb IgG1, нацеливающееся на CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R,

представляет собой FPA008. FPA008 представляет собой гуманизированное антитело mAb, которое ингибирует CSF1R.

Иллюстративные ингибиторы IDO/TDO

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO выбран из (4E)-4-[(3-хлор-4-фторанилино)-нитрозометилиден]-1,2,5-оксадиазол-3-амина (также известного как INCB24360 или эпакадостат; регистрационный номер CAS: 1204669-58-8 (Incyte)), индоксимода (1-метил-D-триптофана), α-циклогексил-5H-имидазо[5,1-a]изоиндол-5-этанола (также известного как NLG919) или BMS-986205 (также известного как F001287 или ONO-7701).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO представляет собой эпакадостат. Он является сильным и избирательным ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO1) с IC_{50}, составляющей 10 нМ. Эпакадостат является высокоизбирательным по сравнению с другими родственными ферментами, такими как IDO2 или триптофан-2,3-диоксигеназа (TDO).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO представляет собой индоксимод (NewLink Genetics). Индоксимод, который представляет собой D-изомер 1-метилтриптофана, является перорально вводимым низкомолекулярным ингибитором метаболического пути индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), который нарушает механизмы, благодаря которым опухоли избегают иммуноопосредованного разрушения. NLG919 является сильным ингибитором метаболического пути IDO с Ki/EC_{50}, составляющей соответственно 7 нМ/75 нМ в бесклеточных анализах.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO представляет собой BMS-986205 (также известный как F001287 или ONO-7701) (Flexus/BMS). BMS-986205 является низкомолекулярным ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы 1 (IDO1).

Иллюстративные ингибиторы TGF-β

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором трансформирующего фактора роста бета (TGF-β). Ингибитор TGF-β может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TGF-β выбран из фрезолимумаба и XOMA 089 (Xoma).

TGF-β принадлежит к большому семейству структурно родственных цитокинов, включающему, например, костные морфогенетические белки (BMP), факторы роста и дифференцировки, активины и ингибины. В некоторых вариантах осуществления ингибиторы TGF-β, описанные в данном документе, могут связывать и/или ингибировать одну или несколько изоформ TGF-β (например, одну, две или все из TGF-β1, TGF-β2 или TGF-β3).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор TGF-β представляет собой фрезолимумаб (регистрационный номер CAS: 948564-73-6). Фрезолимумаб также известен как GC1008. Фрезолимумаб представляет собой человеческое моноклональное антитело, которое связывается с изоформами 1, 2 и 3 TGF-бета и ингибирует их. Фрезолимумаб раскрыт, например, в WO 2006/086469, US 8383780 и US 8591901.

Тяжелая цепь фрезолимумаба имеет следующую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSNVISWVRQAPGQGLEWMGGVIPIVDIA
NYAQRFKGRVTITADESTSTTYMELSSLRSEDTAVYYCASTLGLVLDAMDYWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1012).

Легкая цепь фрезолимумаба имеет следующую аминокислотную последовательность:
ETVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAPGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYADSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1013).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор TGF-β представляет собой XOMA 089. XOMA 089 также известен как XPA.42.089. XOMA 089 представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело, которое связывает и нейтрализует лиганды TGF-бета 1 и 2, не взаимодействуя при этом с TGF-бета 3.

Вариабельная область тяжелой цепи XOMA 089 имеет следующую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLWEVRALPSVYWGQGTLV
TVSS (SEQ ID NO: 310) (раскрытую под SEQ ID NO: 6 в WO 2012/167143).

Вариабельная область легкой цепи XOMA 089 имеет следующую аминокислотную последовательность:
SYELTQPPSVSVAPGQTARITCGANDIGSKSVHWYQQKAGQAPVLVVSEDIIRPSGIPERI
SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDRDSDQYVFGTGTKVTVLG (SEQ ID NO: 311) (раскрытую под SEQ ID NO: 8 в WO 2012/167143).

Иллюстративные ингибиторы VEGFR

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (например, ингибитором одного или нескольких из VEGFR (например, VEGFR-1, VEGFR-2 или VEGFR-3) или VEGF).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор VEGFR представляет собой сукцинат ваталаниба (соединение A47) или соединение, раскрытое в EP 296122.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор VEGFR представляет собой 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/030377, которые являются ингибиторами одного или нескольких из VEGFR-2, PDGFR-бета, KIT или Raf-киназы C.

Другие иллюстративные ингибиторы сигнального пути VEGFR, которые можно применять в комбинациях, раскрытых в данном документе, включают, например, бевацизумаб (AVASTIN®), акситиниб (INLYTA®); аланинат бриваниба (BMS-582664, (S)-((R)-1-(4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-5-метилпирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-6-илокси)пропан-2-ил)2-аминопропаноат); сорафениб (NEXAVAR®); пазопаниб (VOTRIENT®); малат сунитиниба (SUTENT®); цедираниб (AZD2171, CAS 288383-20-1); варгатеф (BIBF1120, CAS 928326-83-4); форетиниб (GSK1363089); телатиниб (BAY57-9352, CAS 332012-40-5); апатиниб (YN968D1, CAS 811803-05-1); иматиниб (GLEEVEC®); понатиниб (AP24534, CAS 943319-70-8); тивозаниб (AV951, CAS 475108-18-0); регорафениб (BAY73-4506, CAS 755037-03-7); дигидрохлорид ваталаниба (PTK787, CAS 212141-51-0); бриваниб (BMS-540215, CAS 649735-46-6); вандетаниб (CAPRELSA® или AZD6474); мотезаниба дифосфат (AMG706, CAS 857876-30-3, N-(2,3-дигидро-3,3-диметил-1H-индол-6-ил)-2-[(4-пиридинилметил)амино]-3-пиридинкарбоксамид, описанный в PCT-публикации № WO 02/066470; линфаниб (ABT869, CAS 796967-16-3); кабозантиниб (XL184, CAS 849217-68-1); лестауртиниб (CAS 111358-88-4); N-[5-[[[5-(1,1-диметилэтил)-2-оксазолил]метил]тио]-2-тиазолил]-4-пиперидинкарбоксамид (BMS38703, CAS 345627-80-7); (3R,4R)-4-амино-1-((4-((3-метоксифенил)амино)пирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-5-ил)метил)пиперидин-3-ол (BMS690514); N-(3,4-дихлор-2-фторфенил)-6-метокси-7-[[(3aα,5β,6aα)-октагидро-2-метилциклопента[c]пиррол-5-ил]метокси]-4-хиназолинамин (XL647, CAS 781613-23-8); 4-метил-3-[[1-метил-6-(3-пиридинил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4-ил]амино]-N-[3-(трифторметил)фенил]-бензамид (BHG712, CAS 940310-85-0); афлиберцепт (EYLEA®) и эндостатин (ENDOSTAR®).

Иллюстративные антитела к VEGF, которые можно применять в комбинациях, раскрытых в данном документе, включают, например, моноклональное антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и моноклональное антитело A4.6.1 к VEGF, полученное из гибридомы ATCC HB 10709; рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к VEGF, полученное в соответствии с Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599. В одном варианте осуществления антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб (BV), также известный как rhuMAb-VEGF или AVASTIN®. Он содержит мутантные каркасные области IgG1 человека и антигенсвязывающие области, определяющие комплементарность, из мышиного моноклонального антитела A.4.6.1 к hVEGF, которое блокирует связывание VEGF человека с его рецепторами. Бевацизумаб и другие гуманизированные антитела к VEGF дополнительно описаны в патенте США №

6884879, выданном 26 февраля 2005 г. Дополнительные антитела включают антитела серии G6 или B20 (например, G6-31, B20-4.1), описанные в PCT-публикации № WO 2005/012359, PCT-публикации № WO 2005/044853. В отношении дополнительных антител см. патенты США №№ 7060269, 6582959, 6703020, 6054297, WO98/45332, WO 96/30046, WO94/10202, EP 0666868B1, публикации заявок на патент США №№ 2006/009360, 2005/0186208, 2003/0206899, 2003/0190317, 2003/0203409 и 2005/0112126; а также Popkov et al, Journal of Immunological Methods 288: 149-164 (2004). Другие антитела включают антитела, которые связываются с функциональным эпитопом в VEGF человека, содержащим остатки F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I91, K101, E103 и C104 или, в качестве альтернативы, содержащим остатки F17, Y21, Q22, Y25, D63, 183 и Q89.

Иллюстративные ингибиторы EGFR

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, например, молекулу антитела к ENTPD2, описанную в данном документе, применяют в комбинации с ингибитором тирозинкиназы (например, ингибитором рецепторной тирозинкиназы (RTK)). Иллюстративные ингибиторы тирозинкиназ включают без ограничения ингибитор сигнального пути эпидермального фактора роста (EGF) (например, ингибитор рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)), ингибитор сигнального пути фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR) (например, ингибитор VEGFR-1, ингибитор VEGFR-2, ингибитор VEGFR-3)), ингибитор сигнального пути фактора роста тромбоцитов (PDGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста тромбоцитов (PDGFR) (например, ингибитор PDGFR-β)), ингибитор RAF-1, ингибитор KIT и ингибитор RET. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором рецептора эпидермального фактора роста (EGFR).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор EGFR представляет собой (R, E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/184757.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор EGFR выбран из одного или нескольких из эрлотиниба (Tarceva®), гефитиниба (Iressa®), цетуксимаба (Erbitux®), панитумумаба (Vectibix®), нецитумумаба (Portrazza®), дакомитиниба, нимотузумаба, имгатузумаба, афатиниба или осимертиниба (Tagrisso).

Другие противораковые средства, например, ингибиторы сигнальных путей тирозинкиназ, которые можно применять в комбинациях, раскрытых в данном документе, включают без ограничения выбранные ингибиторы тирозинкиназ, выбранные из сунитиниба (Sutent®) или сорафениба (Nexavar®).

В некоторых вариантах осуществления противораковое средство, применяемое в комбинации с ингибитором Hedgehog, выбрано из группы, состоящей из акситиниба (AG013736), босутиниба (SKI-606), цедираниба (RECENTIN™, AZD2171), дазатиниба

(SPRYCEL®, BMS-354825), эрлотиниба (TARCEVA®), гефитиниба (IRESSA®), иматиниба (Gleevec®, CGP57148B, STI-571), лестауртиниба (CEP-701), нератиниба (HKI-272), нилотиниба (TASIGNA®), семаксаниба (семаксиниба, SU5416), сунитиниба (SUTENT®, SU11248), тоцераниба (PALLADIA®), вандетаниба (ZACTIMA®, ZD6474), ваталаниба (PTK787, PTK/ZK), трастузумаба (HERCEPTIN®), бевацизумаба (AVASTIN®), ритуксимаба (RITUXAN®), цетуксимаба (ERBITUX®), панитумумаба (VECTIBIX®), ранибизумаба (Lucentis®), нилотиниба (TASIGNA®), сорафениба (NEXAVAR®), алемтузумаба (CAMPATH®), конъюгата гемтузумаб-озогамицин (MYLOTARG®), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, BIBW 2992 (TOVOK™), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, ABT-869, MP470, BIBF 1120 (VARGATEF®), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS-690154, CEP-11981, тивозаниба (AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647, XL228, AEE788, AG-490, AST-6, BMS-599626, CUDC-101, PD153035, пелитиниба (EKB-569), вандетаниба (Zactima), WZ3146, WZ4002, WZ8040, ABT-869 (линифаниба), AEE788, AP24534 (понатиниба), AV-951 (тивозаниба), акситиниба, BAY 73-4506 (регорафениба), аланината бриваниба (BMS-582664), бриваниба (BMS-540215), цедираниба (AZD2171), CP 673451, CYC116, E7080, Ki8751, маситиниба (AB1010), MGCD-265, дифосфата мотезаниба (AMG-706), MP-470, OSI-930, гидрохлорида пазопаниба, PD173074, тозилата сорафениба (Bay 43-9006), SU 5402, TSU-68 (SU6668), ваталаниба, XL880 (GSK1363089, EXEL-2880).

Иллюстративные ингибиторы c-MET

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором c-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой соединение A17 или соединение, описанное в патентах США №№ 7767675 и 8420645.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой JNJ-38877605. JNJ-38877605 является низкомолекулярным ингибитором c-MET, характеризующимся доступностью при пероральном применении. JNJ-38877605 избирательно связывается с c-MET, таким образом ингибируя фосфорилирование c-MET и нарушая пути передачи сигнала, опосредованной c-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой AMG 208. AMG 208 является избирательным низкомолекулярным ингибитором c-MET. AMG 208 ингибирует лигандзависимую и лигаднезависимую активацию c-MET, ингибируя его тирозинкиназную активность, что может приводить к ингибированию роста клеток в опухолях, которые сверхэкспрессируют c-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой AMG 337. AMG 337 является ингибитором c-MET, характеризующимся биодоступностью при пероральном применении. AMG 337 избирательно связывается с c-MET, таким образом нарушая пути передачи сигнала, опосредованной c-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой LY2801653. LY2801653 является низкомолекулярным ингибитором c-MET,

характеризующимся доступностью при пероральном применении. LY2801653 избирательно связывается с c-MET, таким образом ингибируя фосфорилирование c-MET и нарушая пути передачи сигнала, опосредованной c-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой MSC2156119J. MSC2156119J является ингибитором c-MET, характеризующимся биодоступностью при пероральном применении. MSC2156119J избирательно связывается с c-MET, в результате чего происходит ингибирование фосфорилирования c-MET и нарушение путей передачи сигнала, опосредованной c-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой капматиниб. Капматиниб также известен как INCB028060. Капматиниб является ингибитором c-MET, характеризующимся биодоступностью при пероральном применении. Капматиниб избирательно связывается с c-MET, таким образом ингибируя фосфорилирование c-MET и нарушая пути передачи сигнала, опосредованной c-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой кризотиниб. Кризотиниб также известен как PF-02341066. Кризотиниб является аминопиридиновым ингибитором рецепторной тирозинкиназы, являющейся киназой анапластической лимфомы (ALK), и c-MET/рецептора фактора роста гепатоцитов (HGFR), характеризующимся доступностью при пероральном применении. Кризотиниб ATP-конкурентным образом связывается с ALK-киназой и слитыми белками на основе ALK и ингибирует их. Кроме того, кризотиниб ингибирует киназу c-MET и нарушает сигнальный путь c-MET. В целом это средство подавляет рост опухолевых клеток.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой голватиниб. Голватиниб является двойным ингибитором киназ c-MET и VEGFR-2 с потенциальной противоопухолевой активностью, характеризующимся биодоступностью при пероральном применении. Голватиниб связывается как с c-MET, так и с VEGFR-2 и ингибирует их активность, в результате чего может ингибироваться рост опухолевых клеток и выживание опухолевых клеток, которые сверхэкспрессируют эти рецепторные тирозинкиназы.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-MET представляет собой тивантиниб. Тивантиниб также известен как ARQ 197. Тивантиниб является низкомолекулярным ингибитором c-MET, характеризующимся биодоступностью при пероральном применении. Тивантиниб связывается с белком c-MET и нарушает пути передачи сигнала, опосредованной c-MET, что может индуцировать клеточную гибель опухолевых клеток, сверхэкспрессирующих белок c-MET или экспрессирующих конститутивно активированный белок c-MET.

Иллюстративные ингибиторы IAP

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором ингибитора белка апоптоза (IAP).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IAP представляет собой (S)-N-

((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в патенте США № 8552003.

Иллюстративные ингибиторы mTOR

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет собой 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-c]хинолин-2-он (соединение A41).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет собой эверолимус (также известный как RAD001 или AFINITOR®; соединение A36) или соединение, впервые раскрытое в PCT-публикации № WO 94/09010.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR выбран из одного или нескольких из темсиролимуса (TORISEL®), PF-4691502, GDC0980, OSI-027, GSK1059615, KU-0063794, WYE-354, паломида 529 (P529), PF-04691502, гедатолисиба (PF-05212384, PKI-587), ридафоролимуса (официально известного как деферолимус, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-дигидрокси-19,30-диметокси-15,17,21,23,29,35-гексаметил-2,3,10,14,20-пентаоксо-11,36-диокса-4-азатрицикло[30.3.1.04,9]гексатриаконта-16,24,26,28-тетраен-12-ил]пропил]-2-метоксициклогексилдиметилфосфинат, также известного как AP23573 и MK8669 и описанного в PCT-публикации № WO 03/064383); рапамицина (AY22989, SIROLIMUS®); симапимода (регистрационный номер CAS: 164301-51-3); (5-{2,4-бис[(3S)-3-метилморфолин-4-ил]пиридо[2,3-d]пиримидин-7-ил}-2-метоксифенил)метанола (AZD8055); 2-амино-8-[транс-4-(2-гидроксиэтокси)циклогексил]-6-(6-метокси-3-пиридинил)-4-метилпиридо[2,3-d]пиримидин-7(8H)-она (PF04691502, регистрационный номер CAS: 1013101-36-4); N2-[1,4-диоксо-4-[[4-(4-оксо-8-фенил-4H-1-бензопиран-2-ил)морфолиний-4-ил]метокси]бутил]-L-аргинилглицил-L-α-аспартил-L-серина в форме внутренней соли (SF1126, регистрационный номер CAS: 936487-67-1) (SEQ ID NO: 1011) или XL765 (SAR245409).

Иллюстративные ингибиторы PI3K-γ, -δ

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PI3K), например, гамма- и/или дельта-изоформы фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PI3K-γ,δ).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K является ингибитором дельта- и гамма-изоформ PI3K. Иллюстративные ингибиторы PI3K, которые можно применять в комбинации, описаны, например, в WO 2010/036380, WO 2010/006086, WO 09/114870, WO 05/113556. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K выбран из одного или нескольких из GSK 2126458, GDC-0980, GDC-0941, Sanofi XL147, XL756,

XL147, PF-46915032, CAL-101, CAL 263, SF1126, PX-886 и двойного ингибитора PI3K.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K-γ,δ представляет собой иделалисиб (регистрационный номер CAS: 870281-82-6). Иделалисиб также известен как ZYDELIG®, GS-1101, CAL-101 или 5-фтор-3-фенил-2-[(1S)-1-(7H-пурин-6-иламино)пропил]-4(3H)-хиназолинон. Иделалисиб блокирует P110δ, дельта-изоформу PI3K. Иделалисиб раскрыт, например, в Wu et al. Journal of Hematology & Oncology (2013) 6: 36.

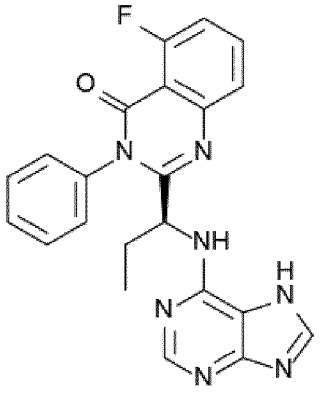
В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K-γ,δ представляет собой 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-c]хинолин-2-он (соединение A41).

Другие иллюстративные ингибиторы PI3K-γ,δ, которые можно применять в комбинации, включают, например, пиктилисиб (GDC-0941), LY294002, пиларалисиб (XL147), PI-3065, PI-103, VS-5584 (SB2343), CZC24832, дувелисиб (IPI-145, INK1197), TG100-115, CAY10505, GSK1059615, PF-04691502, AS-605240, вокталисиб (SAR245409, XL765), IC-87114, омипалисиб (GSK2126458, GSK458), TG100713, гедатолисиб (PF-05212384, PKI-587), аналог PKI-402, XL147, PIK-90, PIK-293, PIK-294, 3-метиладенин (3-MA), AS-252424, AS-604850 или апитолисиб (GDC-0980, RG7422).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K представляет собой соединение A8 или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/029082.

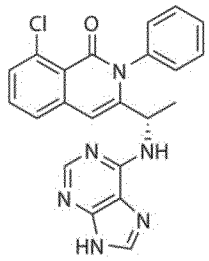
В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K представляет собой (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/124826, которые являются панспецифичными ингибиторами PI3K.

Иллюстративные ингибиторы PI3K-γ,-δ включают без ограничения дувелисиб и иделалисиб. Иделалисиб (также называемый GS-1101 или CAL-101; Gilead) представляет собой малую молекулу, которая блокирует дельта-изоформу PI3K. Структура иделалисиба (5-фтор-3-фенил-2-[(1S)-1-(7H-пурин-6-иламино)пропил]-4(3H)-хиназолинона) показана ниже.



Дувелисиб (также называемый IPI-145; Infinity Pharmaceuticals и AbbVie) представляет собой малую молекулу, которая блокирует PI3K-δ,γ. Структура дувелисиба

(8-хлор-2-фенил-3-[(1S)-1-(9H-пурин-6-иламино)этил]-1(2H)-изохинолинона) показана ниже.



В одном варианте осуществления ингибитор является двойным ингибитором фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и mTOR, выбранным из 2-амино-8-[*транс*-4-(2-гидроксиэтокси)циклогексил]-6-(6-метокси-3-пиридинил)-4-метилпиридо[2,3-d]пиримидин-7(8H)-она (PF-04691502); N-[4-[[4-(диметиламино)-1-пиперидинил]карбонил]фенил]-N'-[4-(4,6-ди-4-морфолинил-1,3,5-триазин-2-ил)фенил]мочевины (PF-05212384, PKI-587); апитолисиба (GDC-0980, RG7422); 2,4-дифтор-N-{2-(метилокси)-5-[4-(4-пиридазинил)-6-хинолинил]-3-пиридинил}бензолсульфонамида (GSK2126458); 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-(пиперазин-1-ил)-3-(трифтометил)фенил)-1H-имидазо[4,5-c]хинолин-2(3H)-она в форме соли малеиновой кислоты (NVP-BGT226); 3-[4-(4-морфолинилпиридо[3',2':4,5]фуро[3,2-d]пиримидин-2-ил)]фенола (PI-103); 5-(9-изопропил-8-метил-2-морфолино-9H-пурин-6-ил)пиримидин-2-амина (VS-5584, SB2343) или N-[2-[(3,5-диметоксифенил)амино]хиноксалин-3-ил]-4-[(4-метил-3-метоксифенил)карбонил]аминофенилсульфонамида (XL765).

Иллюстративные ингибиторы JAK

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором янус-киназ (JAK).

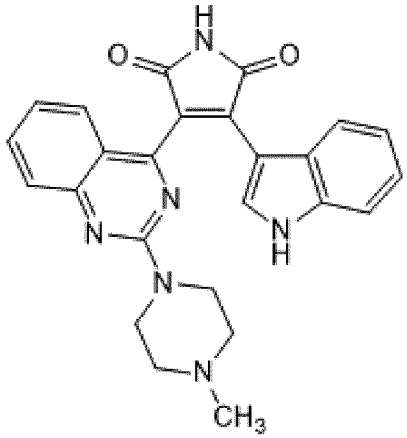
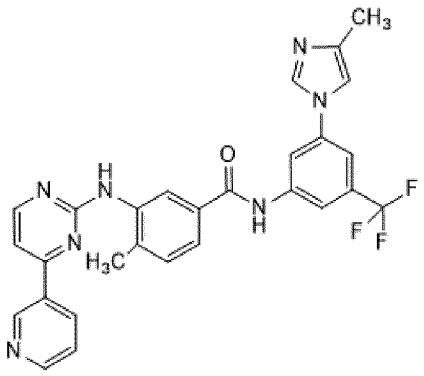
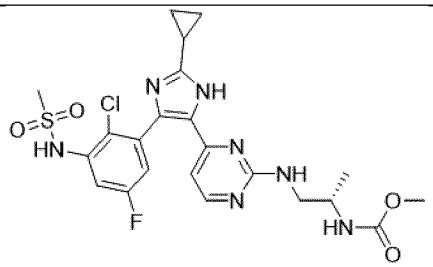
В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK представляет собой 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дигидрохлоридную соль или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/070514.

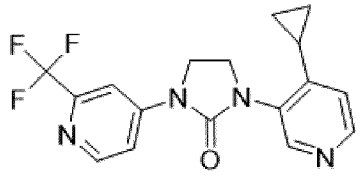
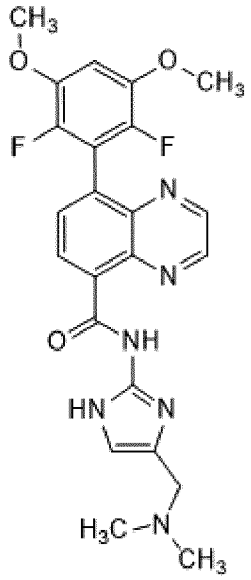
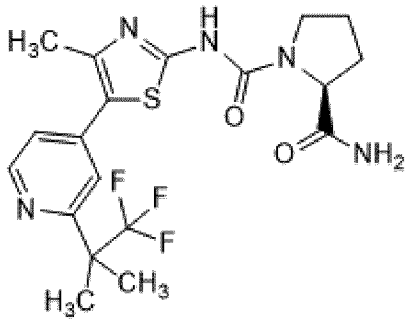
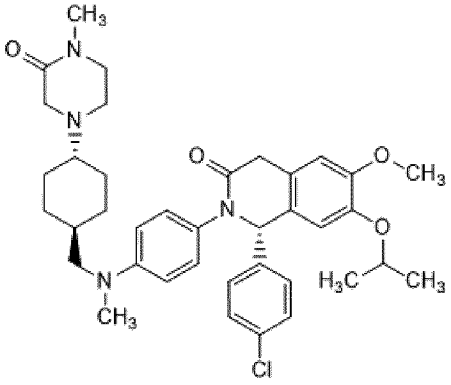
В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK представляет собой фосфат руксолитиниба (также известный как JAKAFI; соединение A18) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/070514.

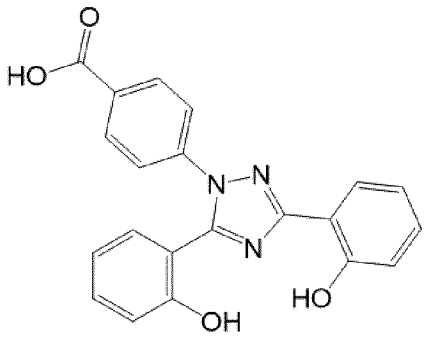
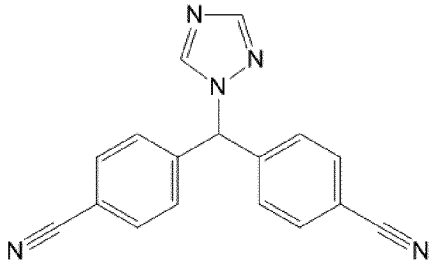
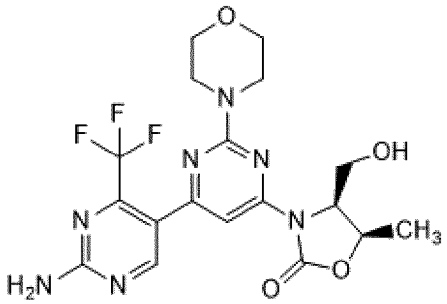
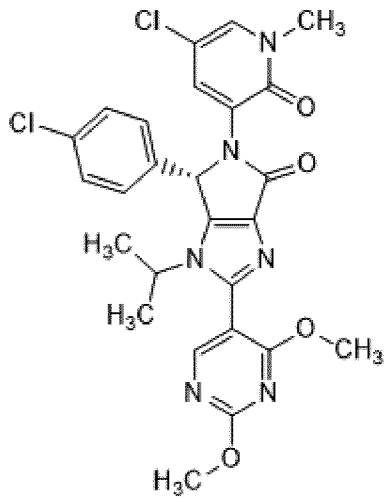
В определенных вариантах осуществления любая из комбинаций, раскрытых в данном документе, в качестве альтернативы или в комбинации дополнительно включает в себя одно или несколько из средств, описанных в таблице 16.

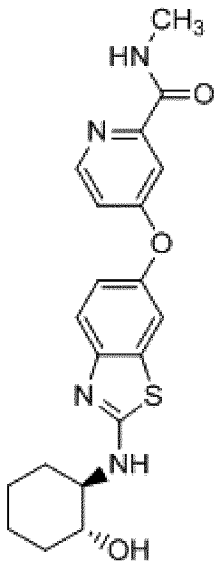
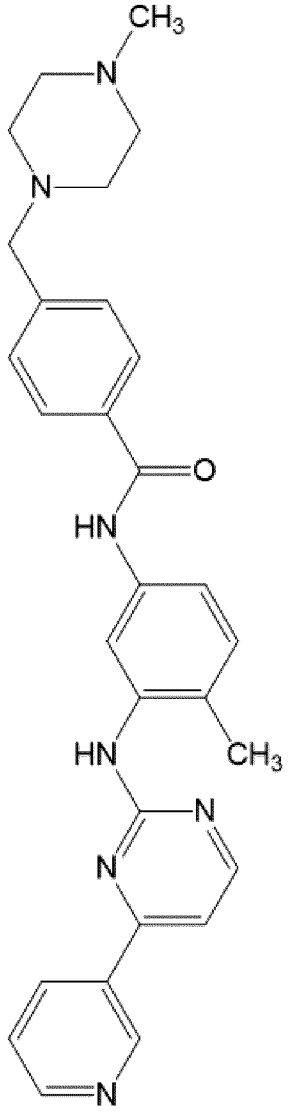
Таблица 16. Выбранные терапевтические средства, которые можно вводить в комбинации с молекулами антител к ENTPD2 человека, например, в качестве средства монотерапии или в комбинации с другими иммуномодуляторами, описанными в данном документе. Каждая публикация, перечисленная в этой таблице, включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, включая все структурные формулы

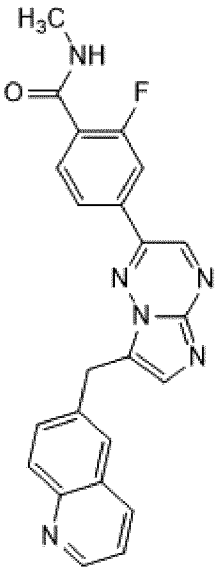
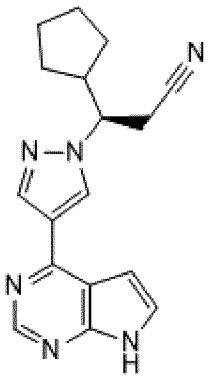
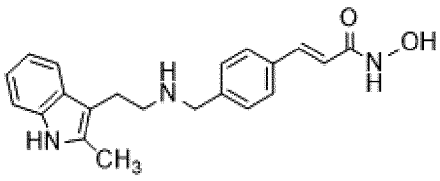
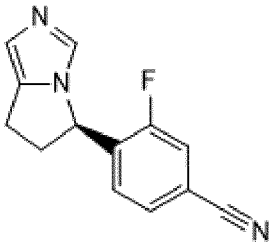
в ней.

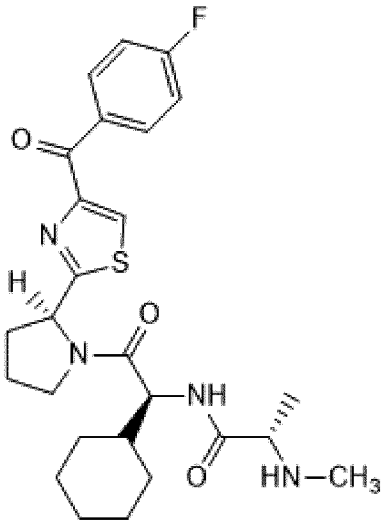
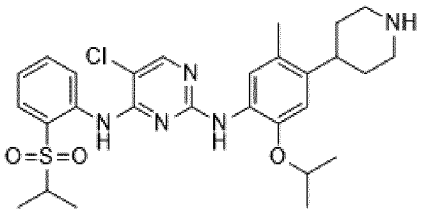
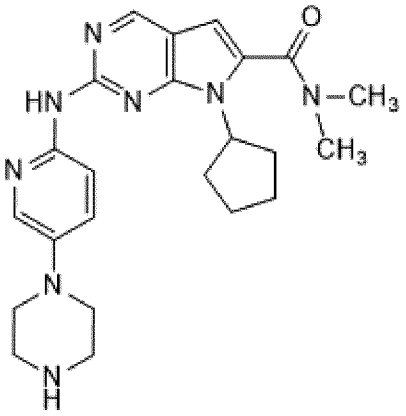
Обозначение соединения	**Непатентованное наименование Торговое наименование**	**Структура соединения**	**Патенты/публикации заявок на патент**
A1	Сотрастаурин		EP 1682103 US 2007/142401 WO 2005/039549
A2	Моногидрат нилотиниба-HCl TASIGNA®	 HCl • H_20	WO 2004/005281 US 7169791
A3			WO 2011/023773

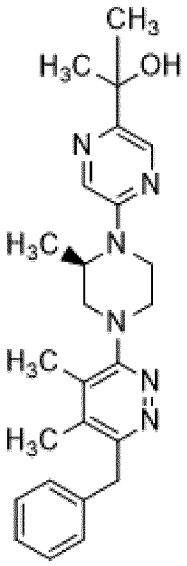
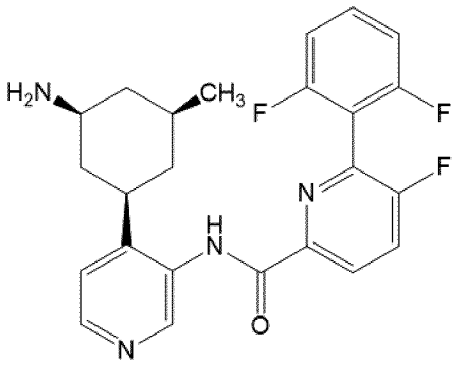
A4			WO 2012/149413
A7			WO 2009/141386 US 2010/0105667
A8			WO 2010/029082
A10			WO 2011/076786

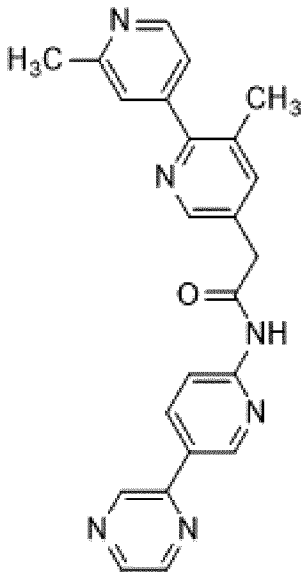
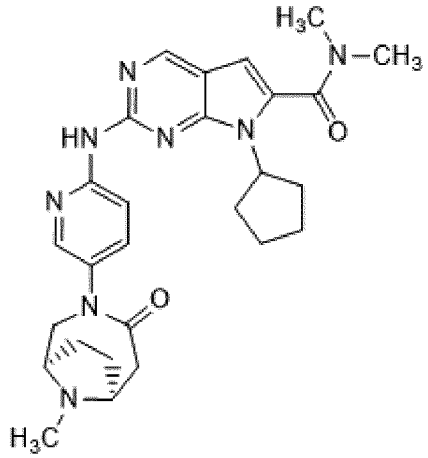
A11	Деферазирокс EXJADE®		WO 1997/049395
A12	Летрозол FEMARA®		US 4978672
A13			WO 2013/124826 US 2013/0225574
A14			WO 2013/111105

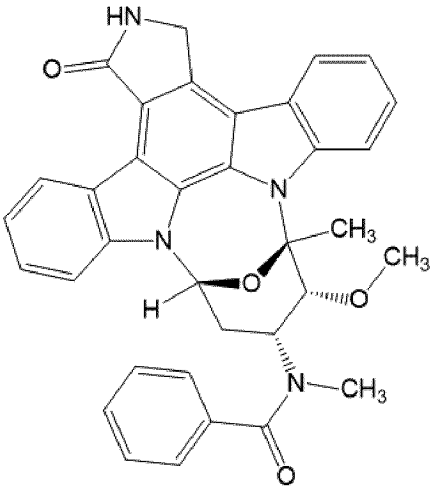
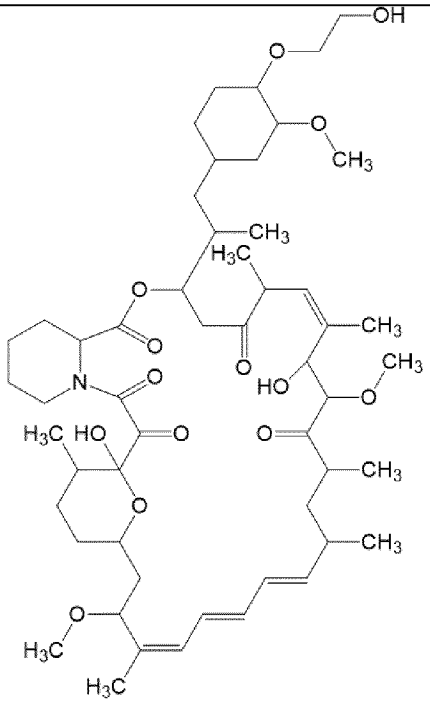
A15			WO 2007/121484
A16	Мезилат иматиниба GLEEVEC®	 Мезилат	WO 1999/003854

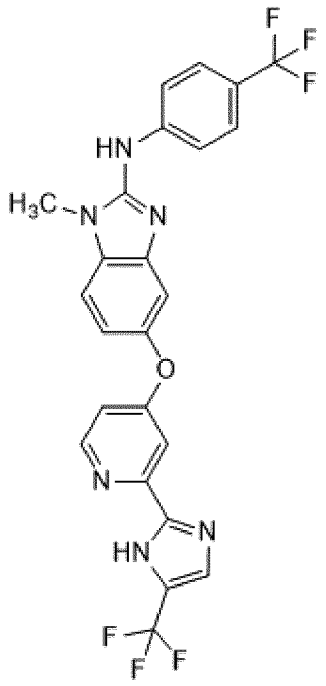
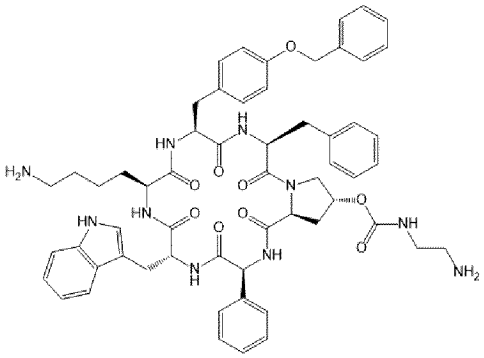
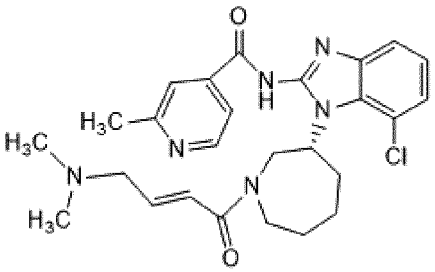
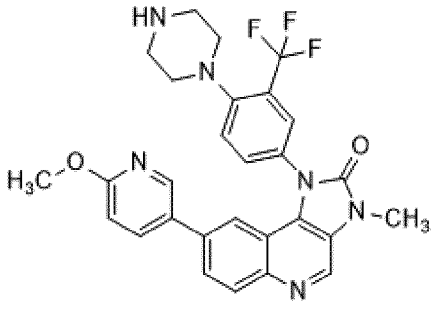
A17		 Дигидрохлоридная соль	EP 2099447 US 7767675 US 8420645
A18	Фосфат руксолитиниба JAKAFI®	 H_3PO_4	WO 2007/070514 EP 2474545 US 7598257 WO 2014/018632
A19	Панобиностат		WO 2014/072493 WO 2002/022577 EP 1870399
A20	Осилодростат		WO 2007/024945

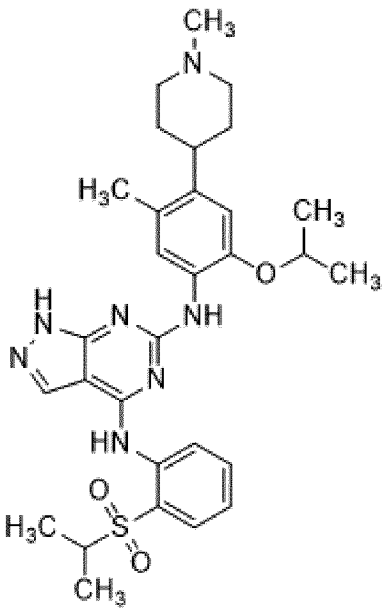
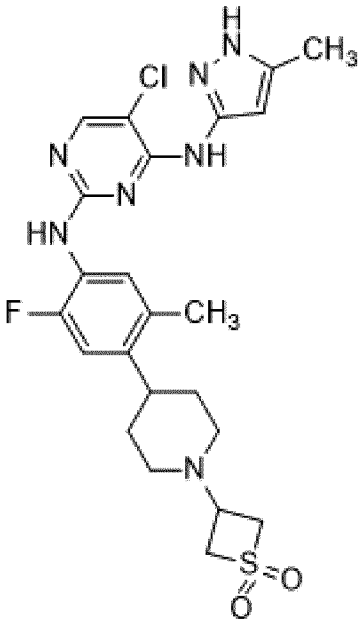
A21			WO 2008/016893 EP 2051990 US 8546336
A23	Церитиниб ZYKADIA™		WO 2008/073687 US 8039479
A24	Рибоциклиб KISQALI®		US 8415355 US 8685980

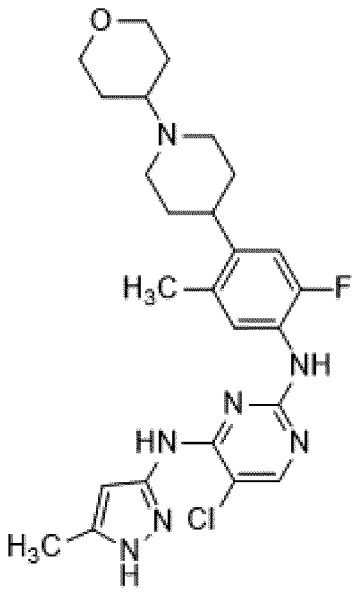
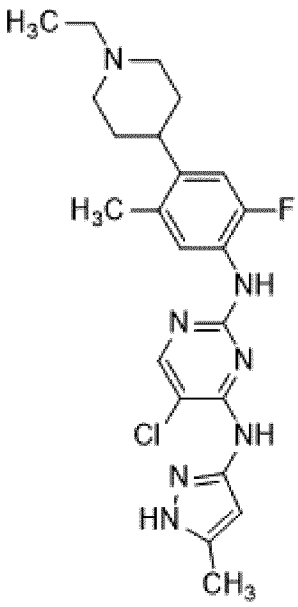
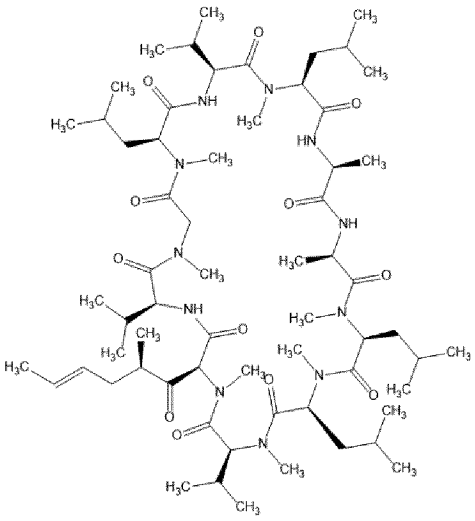
A25			WO 2010/007120
A26		Человеческое моноклональное антитело к PRLR	US 7867493
A27			WO 2010/026124 EP 2344474 US 2010/0056576 WO 2008/106692

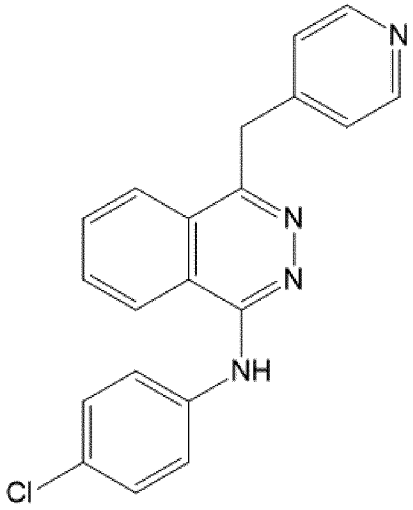
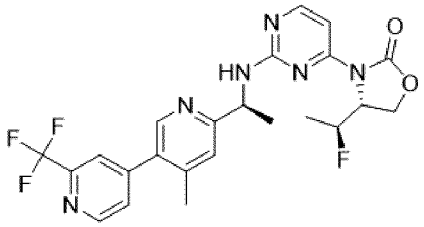
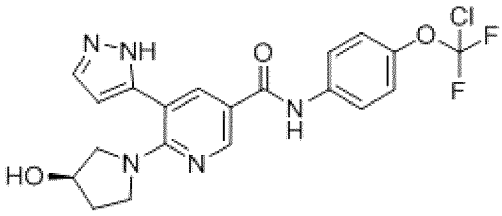
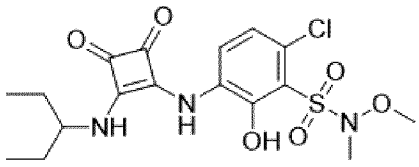
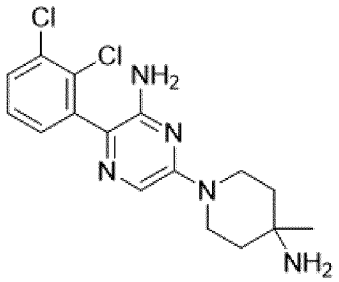
A28			WO 2010/101849
A30			WO 2011/101409
A31		Человеческое моноклональное антитело к HER3	WO 2012/022814 EP 2606070 US 8735551
A32		Конъюгат антитела и лекарственного средства (ADC)	WO 2014/160160 Ab: 12425 (см. таблицу 1, абзац [00191]) Линкер: SMCC (см. абзац [00117]) Полезная нагрузка: DM1 (см. абзац

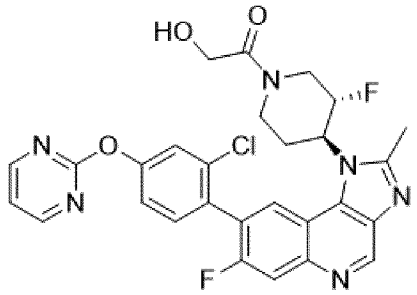
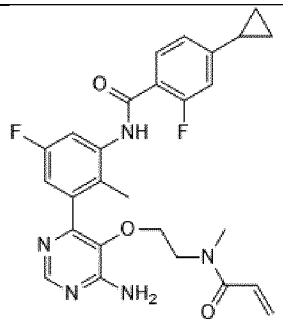
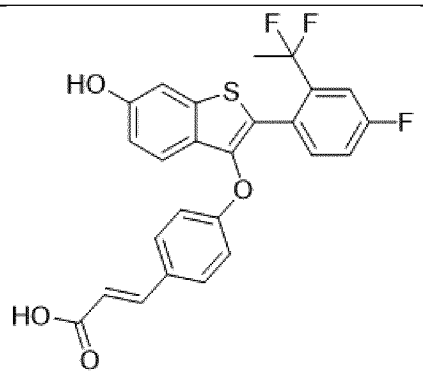
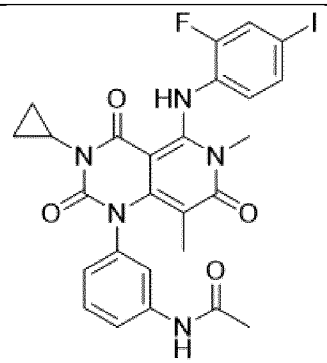
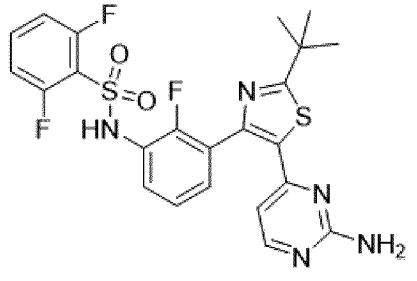
			[00111]) См. также пункт 29 формулы изобретения
A33		Моноклональное антитело или Fab, направленные против M-CSF	WO 2004/045532
A35	Мидостаурин		WO 2003/037347 EP 1441737 US 2012/252785
A36	Эверолимус AFINITOR®		WO 1994/009010 WO 2014/085318

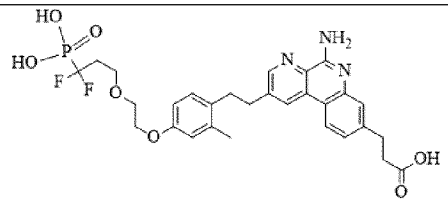
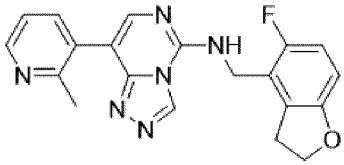
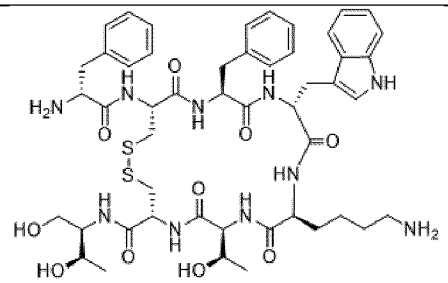
A37			WO 2007/030377 EP 2051990 US 7482367
A38	Диаспартат пасиреотида SIGNIFOR®		WO 2002/010192 US 7473761
A40			WO 2013/184757
A41			WO 2006/122806

A42			WO 2008/073687 US 8372858
A43			WO 2010/002655 US 8519129

A44			WO 2010/002655 US 8519129
A45			WO 2010/002655
A46	Валсподар AMDRAY™		EP 296122

A47	Сукцинат ваталаниба	 сукцинат	WO 98/35958
A48		Ингибитор IDH 	WO 2014/141104
A49	Асциминиб	Ингибитор BCR-ABL 	WO 2013/171639 WO 2013/171640 WO 2013/171641 WO 2013/171642
A50		Ингибитор c-RAF	WO 2014/151616
A51		ATP-конкурентный ингибитор ERK1/2	WO 2015/066188
A52		 или его холиновая соль	WO 2010/015613 WO 2013030803 US 7989497
A53			WO 2015/107493

A54			WO 2015/022662
A55			US 9512084 WO 2015/079417
A56			WO 2014/130310
A57	Траметиниб		WO 2005/121142 US 7378423
A58	Дабрафениб		WO 2009/137391 US 7994185

A59			WO 2011/049677
A60			WO 2016/103155 US 9580437 EP 3237418
A61	Октреотид		US 4395403 EP 0029579

Молекулы антител к ENTPD2 человека, описанные в данном документе, можно вводить в комбинации с дополнительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство выбрано из одного или нескольких из: 1) ингибитора протеинкиназы C (PKC); 2) ингибитора белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитора цитохрома P450 (например, ингибитора CYP17 или ингибитора 17-альфа-гидроксилазы/C17-20-лиазы); 5) железохелатирующего средства; 6) ингибитора ароматазы; 7) ингибитора p53, например, ингибитора взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктора апоптоза; 9) ингибитора ангиогенеза; 10) ингибитора альдостеронсинтазы; 11) ингибитора рецептора Smoothened (SMO); 12) ингибитора рецептора пролактина (PRLR); 13) ингибитора сигнального пути Wnt; 14) ингибитора CDK4/6; 15) ингибитора рецептора 2 фактора роста фибробластов (FGFR2)/рецептора 4 фактора роста фибробластов (FGFR4); 16) ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитора одного или нескольких из высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитора одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, c-KIT или Raf-киназы C; 19) агониста соматостатина и/или ингибитора высвобождения гормона роста; 20) ингибитора киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитора рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитора P-гликопротеина 1; 23) ингибитора рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR); 24) ингибитора киназы BCR-ABL; 25) ингибитора FGFR; 26) ингибитора CYP11B2; 27) ингибитора HDM2, например, ингибитора взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитора тирозинкиназы; 29) ингибитора c-MET; 30) ингибитора JAK; 31) ингибитора DAC; 32) ингибитора 11β-гидроксилазы; 33) ингибитора IAP; 34) ингибитора PIM-киназы; 35) ингибитора поркупина; 36) ингибитора BRAF, например, BRAF V600E или BRAF дикого типа; 37)

ингибитора HER3; 38) ингибитора MEK или 39) ингибитора липидкиназы, например, описанного в данном документе и в таблице 1.

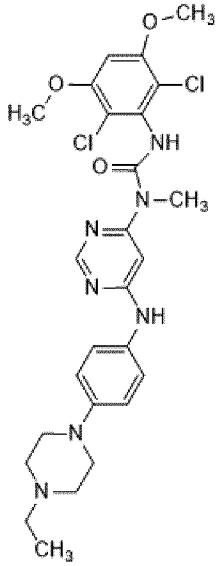
В одном варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя сотрастаурин (соединение A1) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2005/039549, которые являются ингибиторами PKC, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PKC представляет собой сотрастаурин (соединение A1) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2005/039549.

В одном варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя нилотиниб (соединение A2, Tasigna®) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2004/005281, которые являются ингибиторами BCR-ABL, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор BCR-ABL представляет собой нилотиниб или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2004/005281.

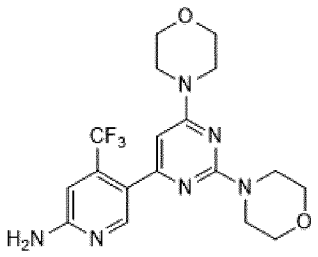
В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя ингибитор HSP90 или применяется в комбинации с ним для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе, например, рака.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, применяется в комбинации с 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-c]хинолин-2-оном (соединением A41), который является ингибитором PI3K и/или mTOR, для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K и/или mTOR представляет собой 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-c]хинолин-2-он (соединение A41).

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение A5) или соединение, раскрытое в патенте США № 8552002, которые являются ингибиторами FGFR, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение A5) или соединение, раскрытое в патенте США № 8552002. Соединение A5 имеет следующую структуру:



В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя бупарлизиб (соединение A6) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/084786, которые являются ингибиторами PI3K, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой бупарлизиб (соединение A6) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/084786. Соединение A6 имеет следующую структуру:



a.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение A7) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2009/141386, которые являются ингибиторами FGFR, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение A7) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2009/141386.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе,

включает в себя (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамид (соединение A8) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/029082, которые являются ингибиторами PI3K, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамид (соединение A8) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/029082.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя ингибитор цитохрома P450 (например, ингибитор CYP17) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/149755, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор цитохрома P450 (например, ингибитор CYP17) представляет собой соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/149755, US 8263635 B2 или EP 2445903 B1.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2011/076786, которые являются ингибиторами HDM2, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор HDM2 представляет собой (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2011/076786.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя деферазирокс (также известный как EXJADE; соединение A11) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 1997/049395, которые являются железохелатирующими средствами, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления железохелатирующее средство представляет собой деферазирокс или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 1997/049395. В одном варианте осуществления железохелатирующее средство представляет собой деферазирокс (соединение A11).

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя летрозол (также известный как FEMARA; соединение A12) или

соединение, раскрытое в US 4978672, которые являются ингибиторами ароматазы, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор ароматазы представляет собой летрозол (соединение A12) или соединение, раскрытое в патенте США 4978672.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/124826, которые являются ингибиторами PI3K, например, панспецифичными ингибиторами PI3K, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/124826.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-он (соединение A14) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/111105, которые являются ингибиторами p53 и/или взаимодействия p53/Mdm2, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор p53 и/или взаимодействия p53/Mdm2 представляет собой (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-он (соединение A14) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/111105.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2005/073224, которые являются ингибиторами тирозинкиназы CSF-1R, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор тирозинкиназы CSF-1R представляет собой 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2005/073224.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе,

включает в себя индуктор апоптоза и/или ингибитор ангиогенеза, такой как мезилат иматиниба (также известный как GLEEVEC®; соединение A16) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 1999/003854, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, описанного нарушения. В одном варианте осуществления индуктор апоптоза и/или ингибитор ангиогенеза представляет собой мезилат иматиниба (соединение A16) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 1999/003854.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дигидрохлоридную соль или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/070514, которые являются ингибиторами JAK, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор JAK представляет собой 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дигидрохлоридную соль или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/070514.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя фосфат руксолитиниба (также известный как JAKAFI; соединение A18) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/070514, которые являются ингибиторами JAK, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор JAK представляет собой фосфат руксолитиниба (соединение A18) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/070514.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя панобиностат (соединение A19) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2014/072493, которые являются ингибиторами деацетилаз (DAC), или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор DAC представляет собой панобиностат (соединение A19) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2014/072493.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя осилодростат (соединение A20) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/024945, которые являются ингибиторами одного или нескольких из цитохрома P450 (например, 11B2), альдостерона или ангиогенеза, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в US 8552003, которые являются ингибиторами IAP, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор IAP представляет собой (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в патенте США 8552003.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ол (соединение A25) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/007120, которые являются ингибиторами Smoothened (SMO), или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор SMO представляет собой (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ол (соединение A25) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/007120.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя церитиниб (также известный как ZYKADIA; соединение A23), который является ингибитором ALK, или применяется в комбинации с ним для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A24) или соединение, раскрытое в патенте США 8415355 или патенте США 8685980, которые являются ингибиторами JAK и/или CDK4/6, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор JAK и/или CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A24) или соединение, раскрытое в патенте США 8415355 или патенте США 8685980.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя молекулу человеческого моноклонального антитела (соединение A26), раскрытую в патенте США № 7867493, которая является ингибитором рецептора

пролактина (PRLR), или применяется в комбинации с ней для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамид (соединение A27) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/026124, которые являются ингибиторами PIM-киназ, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PIM-киназ представляет собой N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамид (соединение A27) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/026124.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение A28) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/101849, которые являются ингибиторами сигнального пути Wnt, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор сигнального пути Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение A28) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/101849. В одном варианте осуществления ингибитор сигнального пути Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение A28).

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя ингибитор BRAF или применяется в комбинации с ним для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе, например, рака.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A30) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2011/101409, которые являются ингибиторами CDK4/6, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A30) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2011/101409.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация,

содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя соединение A31 или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2012/022814, которые являются ингибиторами HER3, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор HER3 представляет собой соединение A31 или соединение, раскрытое в PCT-публикации WO 2012/022814.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя соединение A32 или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2014/160160, которые являются ингибиторами FGFR2 и/или FGFR4 (например, конъюгат молекулы антитела к FGFR2 и/или FGFR4 и лекарственного средства, например, mAb 12425), или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления соединение A32 представляет собой конъюгат молекулы антитела к FGFR2 и/или FGFR4 и лекарственного средства, например, mAb 12425.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя соединение A33 или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2004/045532, которые являются ингибиторами M-CSF (например, молекулу или Fab-фрагмент антитела к M-CSF), или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя ингибитор MEK или применяется в комбинации с ним для лечения нарушения, например, рака, описанного в данном документе.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя мидостаурин (соединение A35) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2003/037347, которые являются ингибиторами одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор представляет собой мидостаурин (соединение A35) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2003/037347.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/030377, которые являются ингибиторами одного или нескольких из VEGFR-2, PDGFR-бета, KIT или Raf-киназы C,

или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор одного или нескольких из VEGFR-2, PDGFR-бета, KIT или Raf-киназы C представляет собой 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2007/030377.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя диаспартат пасиреотида (также известный как SIGNIFOR; соединение A38), или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2002/010192 или патенте США № 7473761, которые являются агонистами соматостатина и/или ингибиторами высвобождения гормона роста, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления агонист соматостатина и/или ингибитор высвобождения гормона роста представляет собой диаспартат пасиреотида (соединение A38) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2002/010192 или патенте США № 7473761.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя модулятор передачи сигнала и/или ингибитор ангиогенеза или применяется в комбинации с ними, например, для лечения нарушения, такого как рак, описанный в данном документе.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя (R, E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/184757, которые являются ингибиторами EGFR, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор EGFR представляет собой (R, E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/184757. В одном варианте осуществления молекула антитела к ENTPD2 человека применяется в комбинации с (R, E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамидом (соединением A40) или соединением, раскрытым в PCT-публикации № WO 2013/184757, для лечения нарушения, такого как рак.

В некоторых вариантах осуществления (R, E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2013/184757, которые являются ингибиторами EGFR, вводят в комбинации с ингибитором ENTPD2 (например, молекулой антитела к ENTPD2 человека) для лечения

рака.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя N^6-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N^4-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамин (соединение A42) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2008/073687, которые являются ингибиторами ALK, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор ALK представляет собой N^6-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N^4-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамин (соединение A42) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2008/073687.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиетан-1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N^2-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N^4-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A44), или 5-хлор-N2-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N^4-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A45), или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/002655, которые являются ингибиторами IGF-1R, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, описанного нарушения. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R представляет собой 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиетан-1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N^2-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N^4-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A44), 5-хлор-N2-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N^4-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A45) или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2010/002655.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя валсподар (также известный как AMDRAY; соединение A46) или соединение, раскрытое в EP 296122, которые являются ингибиторами P-гликопротеина 1, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор P-гликопротеина 1 представляет собой валсподар (соединение A46) или соединение, раскрытое в EP 296122.

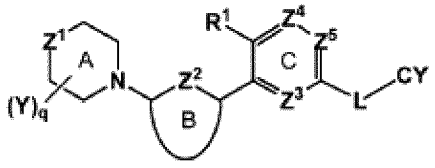
В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя одно или несколько из сукцината ваталаниба (соединения A47) или

соединения, раскрытого в EP 296122, которые являются ингибиторами VEGFR, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор VEGFR представляет собой сукцинат ваталаниба (соединение A47) или соединение, раскрытое в EP 296122.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя ингибитор IDH или соединение, раскрытое в WO 2014/141104, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор IDH представляет собой соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2014/141104.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя ингибитор BCL-ABL или соединение, раскрытое в PCT-публикациях №№ WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор BCL-ABL представляет собой соединение, раскрытое в PCT-публикациях №№ WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642.

В другом варианте осуществления комбинация, например, комбинация, содержащая молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, включает в себя ингибитор c-RAF или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2014/151616, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор c-RAF представляет собой соединение A50 или соединение, раскрытое в PCT-публикации № WO 2014/151616. В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-RAF или соединение A50 представляет собой соединение формулы (I):

b. 

(I)

c. или его фармацевтически приемлемую соль, где:

d. Z^1 представляет собой O, S, S(=O) или SO_2;

e. Z^2 представляет собой N, S или CR^a, где R^a представляет собой H, галоген, C_{1-4}-алкил или C_{1-4}-галогеналкил;

f. R^1 представляет собой CN, галоген, OH, C_{1-4}-алкокси или C_{1-4}-алкил, который необязательно замещен группами в количестве от одной до трех, выбранными из галогена, C_{1-4}-алкокси, CN и гидроксила;

g. кольцо B выбрано из фенила, пиридина, пиримидина, пиразина, пиридазина,

пиридона, пиримидона, пиразинона, пиридазинона и тиазола, каждый из которых необязательно замещен группами в количестве до двух, выбранными из галогена, OH, CN, C_{1-4}-алкила, C_{2-4}-алкенила, -O-(C_{1-4}-алкила), NH_2, NH-(C_{1-4}-алкила), -N(C_{1-4}-алкил)$_2$, -SO_2R^2, $NHSO_2R^2$, $NHC(O)R^2$, $NHCO_2R^2$, C_{3-6}-циклоалкила, 5-6-членного гетероарила, -O-C_{3-6}-циклоалкила, -O-(5-6-членный гетероарил), C_{4-8}-гетероциклоалкила и -O-(4-8-членный гетероциклоалкил), где каждый гетероциклоалкил и гетероарил содержит гетероатомы в количестве до трех, выбранные из N, O и S, в качестве членов кольца,

i. где каждый C_{1-4}-алкил, C_{2-4}-алкенил, C_{3-6}-циклоалкил, 5-6-членный гетероарил и 4-8-членный гетероциклоалкил необязательно замещен группами в количестве до трех, выбранными из оксо, гидроксила, галогена, C_{1-4}-алкила, C_{1-4}-галогеналкила, C_{1-4}-алкокси и -$(CH_2)_{1-2}Q$, где Q представляет собой OH, C_{1-4}-алкокси, -CN, NH_2, $-NHR^3$, $-N(R^3)_2$, $-SO_2R^3$, $NHSO_2R^3$, $NHC(O)OR^3$ или $NHC(O)R^3$; при этом каждый R^2 и R^3 независимо представляет собой C_{1-4}-алкил; и

ii. кольцо B необязательно конденсировано с 5-6-членным ароматическим или неароматическим кольцом, содержащим гетероатомы в количестве до двух, выбранные из N, O и S, при этом 5-6-членное кольцо может быть замещено галогеном, C_{1-4}-алкилом, C_{1-4}-галогеналкилом или C_{1-4}-алкокси, и в случае, если конденсированное кольцо не является ароматическим, варианты заместителя могут дополнительно включать оксо;

h. каждый Y независимо выбран из C_{1-4}-алкила, C_{1-4}-алкокси, CN, галогена, оксо, -$(CH_2)_pOR^4$, -$(CH_2)pN(R^4)_2$, -$(CH_2)pNHC(O)R^4$, -$(CH_2)_pNHCOO(C_{1-4}$-алкила) и имидазола,

i. или две группы Y в кольце A необязательно взяты вместе с образованием кольца, конденсированного или соединенного мостиком с кольцом A, где указанное конденсированное или соединенное мостиком кольцо необязательно содержит гетероатом, выбранный из N, O и S, в качестве члена кольца, и необязательно замещено группами в количестве до двух, выбранными из C_{1-4}-алкила, C_{1-4}-алкокси, CN, галогена, оксо, -$(CH_2)_pOR^4$, -$(CH_2)_pN(R^4)_2$, -$(CH_2)_pNHC(O)R^4$ и -$(CH_2)_pNHCOO(C_{1-4}$-алкил);

j. каждый R^4 независимо представляет собой H или C_{1-4}-алкил;

k. каждое p независимо равняется 0, 1 или 2;

l. q равняется 0, 1 или 2;

m. Z^3, Z^4 и Z^5 независимо выбраны из CH и N и необязательно NO;

n. L представляет собой -C(=O)-NR^4-[CY] или -NR^4-C(=O)-[CY], где [CY] указывает на то, какой атом L присоединен к CY; и

o. CY представляет собой ароматическое кольцо, выбранное из фенила, пиридина, пиримидина, пиразина, пиридазина, пиридона, тиазола, изотиазола, оксазола, пиразола и изоксазола, при этом кольцо необязательно конденсировано с тиофеновым, имидазольным, оксазолоновым или пиррольным кольцом;

p. и CY замещен группами в количестве до двух, выбранными из галогена, CN, R^5, OR^5, SO_2R^5, -S(=NH)(=O)R^5, OH, NH_2, NHR^5 и -$N(R^5)_2$,

i. где каждый R^5 независимо представляет собой C_{1-4}-алкил, C_{2-4}-алкенил, C_{2-6}-гетероциклил, 5-членный гетероарил, содержащий гетероатомы в количестве до трех,

выбранные из N, O и S, в качестве членов кольца, или C_{3-8}-циклоалкил, и R^5 необязательно замещен группами в количестве до четырех, выбранными из оксо, галогена, CN, R^6, OH, OR^6, SO_2R^6, NH_2, NHR^6, $N(R^6)_2$, $NHSO_2R^6$, $NHCOOR^6$, $NHC(=O)R^6$, $-CH_2OR^7$, $-CH_2N(R^7)_2$, где каждый

q. R^6 независимо представляет собой C_{1-4}-алкил, и каждый R^7 независимо представляет собой H или C_{1-4}-алкил;

r. и два R^4, R^5, R^6 или R^7 при одном и том же атоме азота могут быть взяты вместе с образованием 5-6-членного гетероциклического кольца, необязательно содержащего дополнительный N, O или S в качестве члена кольца и необязательно замещенного группами в количестве до двух, выбранными из C_{1-4}-алкила, оксо, галогена, OH и C_{1-4}-алкокси.

Иллюстративные средства клеточной терапии

Молекулы антител к ENTPD2 человека также можно применять в комбинации со средством клеточной терапии, например, средством терапии с использованием химерных антигенных рецепторов (CAR), средством терапии на основе Т-клеток, средством терапии на основе естественных клеток-киллеров (NK) или средством терапии на основе дендритных клеток.

Комбинации со средствами CAR-терапии

Молекулы антител к ENTPD2 человека, описанные в данном документе, можно вводить в комбинации со вторым терапевтическим средством, например, клеткой, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR). CAR может содержать i) внеклеточный антигенсвязывающий домен, ii) трансмембранный домен и iii) внутриклеточный сигнальный домен (который может содержать один или оба из первичного сигнального домена и костимулирующего домена). CAR может дополнительно содержать лидерную последовательность и/или последовательность шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления CAR-конструкция содержит scFv-домен, где перед scFv может располагаться необязательная лидерная последовательность, а за ним могут располагаться необязательная последовательность шарнирной области, трансмембранная область и внутриклеточный сигнальный домен, например, где домены являются смежными и находятся в одной и той же рамке считывания с образованием единого слитого белка.

В некоторых вариантах осуществления молекула CAR предусматривает молекулу CAR для CD19, описанную в данном документе, например, молекулу CAR для CD19, описанную в US 2015/0283178, например, CTL019. В вариантах осуществления CAR для CD19 содержит аминокислотную или имеет нуклеотидную последовательность, показанную в US 2015/0283178, включенном в данный документ посредством ссылки во все своей полноте, или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности по отношению к ней).

В одном варианте осуществления CAR-Т-клетка, которая связывается с CD19,

имеет обозначение согласно USAN тисагенлеклейсел-Т. CTL019 получают посредством генной модификации Т-клеток, опосредованной стабильной вставкой путем трансдукции с помощью самоинактивирующегося лентивирусного (LV) вектора, дефектного по репликации, содержащего трансген CTL019 под контролем промотора гена EF-1-альфа. CTL019 может представлять собой смесь положительных и отрицательных по трансгену Т-клеток, которые доставляются субъекту из расчета процентного количества положительных по трансгену Т-клеток.

В одном варианте осуществления CAR для CD19 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 12 в PCT-публикации WO 2012/079000. В варианте осуществления аминокислотная последовательность представляет собой

MALPVTALLLPLALLLHAARPdiqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsr lhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtct vsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdy wgqgtsvtvsstttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqp fmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqegly nelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr (SEQ ID NO: 312),

или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности по отношению к ней), с последовательностью сигнального пептида, которая указана заглавными буквами, или без нее.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность представляет собой

diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyf cqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwg settyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvssttpaprpptpaptiasqplslrp eacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfs rsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdgly qglstatkdtydalhmqalppr (SEQ ID NO: 313),

или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности по отношению к ней).

Антигенсвязывающий домен химерного антигенного рецептора (CAR)

Антигенсвязывающий домен может представлять собой любой домен, который связывается с антигеном, в том числе без ограничения моноклональное антитело, поликлональное антитело, рекомбинантное антитело, человеческое антитело, гуманизированное антитело и их функциональный фрагмент, в том числе без ограничения однодоменное антитело, такое как вариабельный домен тяжелой цепи (VH), вариабельный домен легкой цепи (VL) и вариабельный домен (VHH) нанотела верблюдовых, а также

альтернативный остов, который, как известно из уровня техники, функционирует в качестве антигенсвязывающего домена, такой как рекомбинантный домен фибронектина, Т-клеточный рецептор (TCR) или его фрагмент, например, одноцепочечный TCR, и т. п. В некоторых случаях целесообразно, чтобы антигенсвязывающий домен был получен от того же вида, у которого в конечном итоге будут применять CAR. Например, для применения у человека может быть целесообразно, чтобы антигенсвязывающий домен CAR содержал в антигенсвязывающем домене антитела или фрагмента антитела человеческие или гуманизированные остатки.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен CAR представляет собой scFv-фрагмент антитела, который является гуманизированным по сравнению с мышиной последовательностью scFv, из которого он получен.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывается с опухолевым антигеном, описанным в данном документе. В вариантах осуществления опухолевый антиген выбран из CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1 (также называемого белком 1 подгруппы CD2, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); молекулы 1, подобной лектинам С-типа (CLL-1 или CLECL1); CD33; варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII); ганглиозида G2 (GD2); ганглиозида GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer); антигена созревания В-клеток (BCMA), являющегося представителем семейства рецепторов TNF; Tn-антигена ((Ag Tn) или (GalNAcα-Ser/Thr)); простатического специфического мембранного антигена (PSMA); орфанного рецептора 1, подобного рецепторной тирозинкиназе (ROR1); Fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3); опухолеассоциированного гликопротеина 72 (TAG72); CD38; CD44v6; раково-эмбрионального антигена (CEA); молекулы адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); альфа-2-субъединицы рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); мезотелина; альфа-субъединицы рецептора интерлейкина 11 (IL-11Ra); антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA); сериновой протеазы 21 (тестизина или PRSS21); рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); антигена системы Льюис (Y); CD24; рецептора фактора роста тромбоцитов бета-типа (PDGFR-бета); стадиеспецифического эмбрионального антигена 4 (SSEA-4); CD20; рецептора фолиевой кислоты альфа; рецепторной тирозинпротеинкиназы ERBB2 (Her2/neu); муцина 1, ассоциированного с клеточной поверхностью (MUC1); рецептора эпидермального фактора роста (EGFR); молекулы адгезии нервных клеток (NCAM); простазы; простатической кислой фосфатазы (PAP); мутантного фактора элонгации 2 (ELF2M); эфрина B2; белка активации фибробластов альфа (FAP); рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептора IGF-I), карбоангидразы IX (CAIX); субъединицы бета-типа 9 протеасомы (просомы, мультикаталитической протеазы) (LMP2); гликопротеина 100 (gp100); онкогенного слитого белка, состоящего из кластерного региона точечных разрывов (BCR) и гомолога 1 онкогена вируса лейкоза мышей Абельсона (Abl) (bcr-abl); тирозиназы; рецептора 2 эфрина А-типа (EphA2); фукозил-GM1; молекулы адгезии, представляющей собой сиалилированный антиген

системы Льюис (sLe); ганглиозида GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer); трансглутаминазы 5 (TGS5); высокомолекулярного антигена, ассоциированного с меланомой (HMWMAA); ганглиозида о-ацетил-GD2 (OAcGD2); рецептора фолиевой кислоты бета; опухолевого эндотелиального маркера 1 (TEM1/CD248); белка, родственного опухолевому эндотелиальному маркеру 7 (TEM7R); клаудина 6 (CLDN6); рецептора тиреотропного гормона (TSHR); представителя D группы 5 класса C рецепторов, сопряженных с G-белками (GPRC5D); белка, кодируемого открытой рамкой считывания 61 X-хромосомы (CXORF61); CD97; CD179a; киназы анапластической лимфомы (ALK); полисиаловой кислоты; плацентоспецифического белка 1 (PLAC1); гексасахаридной части гликоцерамида globoH (GloboH); дифференцировочного антигена молочной железы (NY-BR-1); уроплакина 2 (UPK2); клеточного рецептора 1 вируса гепатита A (HAVCR1); бета-3-адренорецептора (ADRB3); паннексина 3 (PANX3); рецептора 20, сопряженного с G-белком (GPR20); антигена локуса K9 комплекса лимфоцитарных антигенов 6 (LY6K); обонятельного рецептора 51E2 (OR51E2); белка, кодируемого альтернативной рамкой считывания гена TCR-гамма (TARP); белка опухоли Вильмса (WT1); раково-тестикулярного антигена 1 (NY-ESO-1); раково-тестикулярного антигена 2 (LAGE-1a); антигена 1, ассоциированного с меланомой (MAGE-A1); белка, кодируемого транслокационным вариантом 6 гена ETS, локализованным в p-плече 12 хромосомы (ETV6-AML); белка сперматозоидов 17 (SPA17); представителя 1A семейства X-антигенов (XAGE1); ангиопоэтин-связывающего рецептора клеточной поверхности 2 (TIE-2); раково-тестикулярного антигена меланомы 1 (MAD-CT-1); раково-тестикулярного антигена меланомы 2 (MAD-CT-2); Fos-родственного антигена 1; опухолевого белка p53 (p53); мутантного p53; простеина; сурвивина; теломеразы; опухолевого антигена 1 карциномы предстательной железы (PCTA-1 или галектина 8), антигена меланомы 1, распознаваемого T-клетками (MelanA или MART1); мутантного антигена саркомы крыс (Ras); теломеразной обратной транскриптазы человека (hTERT); антигена саркомы с точечными разрывами при транслокации; меланомного ингибитора апоптоза (ML-IAP); ERG (продукта слитого гена трансмембранной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2) и ETS); N-ацетилглюкозаминилтрансферазы V (NA17); белка с парным box-доменом Pax-3 (PAX3); андрогенового рецептора; циклина B1; нейробластомного гомолога онкогена вируса миелоцитоматоза птиц v-myc (MYCN); представителя C семейства гомологов Ras (RhoC); белка 2, родственного тирозиназе (TRP-2); цитохрома P450 1B1 (CYP1B1); белка, подобного CCCTC-связывающему фактору (белку с "цинковыми пальцами") (BORIS или "брата регулятора импринтированных сайтов"), антигена плоскоклеточной карциномы 3, распознаваемого T-клетками (SART3); белка с парным box-доменом Pax-5 (PAX5); проакрозин-связывающего белка sp32 (OY-TES1); лимфоцитоспецифической протеинтирозинкиназы (LCK); якорного белка 4 киназы A (AKAP-4); антигена 2 синовиальной саркомы с точечным разрывом в X-хромосоме (SSX2); рецептора конечных продуктов гликирования (RAGE-1); почечного убиквитарного белка 1 (RU1); почечного убиквитарного белка 2 (RU2); легумаина; E6

вируса папилломы человека (E6 HPV); E7 вируса папилломы человека (E7 HPV); кишечной карбоксилэстеразы; мутантного белка теплового шока 70-2 (mut-hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; иммуноглобулиноподобного рецептора 1, ассоциированного с лейкоцитами (LAIR1); рецептора Fc-фрагмента IgA (FCAR или CD89); представителя 2 подсемейства A лейкоцитарных иммуноглобулиноподобных рецепторов (LILRA2); представителя f семейства белков, подобных молекулам CD300 (CD300LF); представителя A семейства 12 лектиновых доменов C-типа (CLEC12A); антигена 2 стромальных клеток костного мозга (BST2); белка 2, подобного муциноподобному рецептору гормона, содержащему EGF-подобный модуль (EMR2); лимфоцитарного антигена 75 (LY75); глипикана-3 (GPC3); антигена 5, подобного Fc-рецептору (FCRL5); и полипептида 1, подобного иммуноглобулину лямбда (IGLL1).

В одном варианте осуществления молекула CAR предусматривает молекулу CAR для BCMA, например, CAR для BCMA, описанную в US 2016/0046724 или WO 2016/014565, включенных в данный документ посредством ссылки. В вариантах осуществления CAR для BCMA содержит аминокислотную или имеет нуклеотидную последовательность молекулы CAR или антигенсвязывающего домена в соответствии с US 2016/0046724 или таблицей 1 или 16, SEQ ID NO: 271 или SEQ ID NO: 273 из WO 2016/014565, включенной в данный документ посредством ссылки, или последовательность, по существу идентичную любой из вышеупомянутых последовательностей (например, которая характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности по отношению к любой из вышеупомянутых последовательностей CAR для BCMA). Аминокислотные последовательности молекул CAR для BCMA и антигенсвязывающих доменов (например, содержащих одну, две, три CDR VH и одну, две, три CDR VL согласно Kabat или Chothia) и нуклеотидные последовательности, кодирующие их, указаны в WO 2016/014565.

Трансмембранный домен химерного антигенного рецептора (CAR)

Что касается трансмембранного домена, в различных вариантах осуществления CAR можно разработать так, чтобы он содержал трансмембранный домен, присоединенный к внеклеточному домену CAR.

Трансмембранный домен может быть получен из природного либо из рекомбинантного источника. Если источник является природным, то домен может быть получен из любого мембраносвязанного или трансмембранного белка. В одном аспекте трансмембранный домен способен передавать сигнал внутриклеточному(внутриклеточным) домену(доменам) всякий раз, когда CAR связался с мишенью. Трансмембранный домен может содержать по меньшей мере трансмембранную(трансмембранные) область(области), например, альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD27, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен может содержать по меньшей мере трансмембранную(трансмембранные) область(области), например, KIRDS2, OX40, CD2,

CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R-бета, IL2R-гамма, IL7R-α, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D, или NKG2C.

В некоторых случаях трансмембранный домен может быть присоединен к внеклеточной области CAR, например, антигенсвязывающему домену CAR, посредством шарнирной области, например, шарнирной области из человеческого белка. Например, в одном варианте осуществления шарнирная область может представлять собой шарнирную область человеческого Ig (иммуноглобулина) (например, шарнирную область IgG4, шарнирную область IgD), линкер GS (например, линкер GS, описанный в данном документе), шарнирную область KIR2DS2 или шарнирную область CD8a.

Внутриклеточный сигнальный домен химерного антигенного рецептора (CAR)

Цитоплазматические домен или область CAR содержат внутриклеточный сигнальный домен. Внутриклеточный сигнальный домен обычно отвечает за активацию по меньшей мере одной из нормальных эффекторных функций иммунной клетки, в которую был введен CAR.

Примеры внутриклеточных сигнальных доменов для применения в CAR включают цитоплазматические последовательности Т-клеточного рецептора (TCR) и корецепторов, которые действуют совместно, инициируя передачу сигнала после вступления в контакт с антигенным рецептором, а также любое производное или вариант этих последовательностей и любую рекомбинантную последовательность, которая обладает такими же функциональными возможностями.

Первичный сигнальный домен регулирует первичную активацию комплекса TCR стимулирующим образом либо ингибирующим образом. Первичные внутриклеточные сигнальные домены, которые действуют стимулирующим образом, могут содержать сигнальные мотивы, известные как иммунорецепторные тирозиновые активирующие мотивы или ITAM.

Примеры первичных внутриклеточных сигнальных доменов, содержащих ITAM, включают домены CD3-дзета, общей гамма-цепи FcR (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12. В одном варианте осуществления CAR содержит внутриклеточный сигнальный домен, например, первичный сигнальный домен CD3-дзета.

Внутриклеточный сигнальный домен CAR может содержать сигнальный домен CD3-дзета в отдельности или в комбинации с любым(любыми) другим(другими) необходимым(необходимыми) внутриклеточным(внутриклеточными) сигнальным(сигнальными) доменом(доменами), применимым(применимыми) в качестве

составной части CAR по настоящему изобретению. Например, внутриклеточный сигнальный домен CAR может содержать часть дзета-цепи CD3 и костимулирующий сигнальный домен. Костимулирующий сигнальный домен относится к части CAR, содержащей внутриклеточный домен костимулирующей молекулы. Костимулирующая молекула представляет собой молекулу клеточной поверхности, отличную от антигенного рецептора или его лигандов, которая требуется для эффективного ответа лимфоцитов на антиген. Примеры таких молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, лимфоцитарный функционально-ассоциированный антиген 1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 и лиганд, который связывается с CD83, и т. п. Например, было продемонстрировано, что костимуляция с помощью CD27 усиливает размножение, эффекторную функцию и выживание человеческих CART-клеток in vitro и увеличивает персистенцию и противоопухолевую активность человеческих Т-клеток in vivo (Song et al. Blood. 2012; 119(3):696-706). Дополнительные примеры таких костимулирующих молекул включают CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8-альфа, CD8-бета, IL2R-бета, IL2R-гамма, IL7R-альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), NKG2D, CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, и CD19a.

Активация и размножение иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток)

Иммунные эффекторные клетки, такие как Т-клетки, можно активировать и размножать, как правило, с применением способов, описанных, например, в патентах США 6352694; 6534055; 6905680; 6692964; 5858358; 6887466; 6905681; 7144575; 7067318; 7172869; 7232566; 7175843; 5883223; 6905874; 6797514; 6867041 и публикации заявки на патент США № 2006/0121005, включенных в данный документ посредством ссылки.

Примеры иммунных эффекторных клеток включают Т-клетки, например, альфа/бета-Т-клетки и гамма/дельта-Т-клетки, В-клетки, естественные клетки-киллеры (NK), естественные Т-клетки-киллеры (NKT), тучные клетки и фагоциты миелоидного происхождения.

Способы получения клеток, экспрессирующих CAR, описаны, например, в US 2016/0185861, включенном в данный документ посредством ссылки.

Иллюстративные противораковые вакцины

Молекулы антител к ENTPD2 человека можно применять в комбинации с иммуногенным средством, таким как раковые клетки, очищенные опухолевые антигены (в том числе рекомбинантные белки, пептиды и молекулы углеводов), клетки и клетки, трансфицированные генами, кодирующими иммуностимулирующие цитокины (He et al. (2004) J. Immunol. 173:4919-28). Неограничивающие примеры противоопухолевых вакцин,

которые можно применять, включают пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигены MAGE, Trp-2, MART1 и/или тирозиназу, опухолевые клетки, трансфицированные для экспрессии цитокина GM-CSF, вакцины на основе ДНК, вакцины на основе РНК и вакцины на основе трансдуцирующих вирусов. Противораковая вакцина может быть профилактической или терапевтической.

Блокаду ENTPD2 можно применять в сочетании с совокупностью рекомбинантных белков и/или пептидов, экспрессирующихся в опухоли, для выработки иммунного ответа на эти белки.

Другие противоопухолевые вакцины могут содержать белки из вирусов, участвующих в развитии форм рака человека, таких как вирусы папилломы человека (HPV), вирусы гепатита (HBV и HCV), вирус герпеса, ассоциированный с саркомой Капоши (KHSV), и вирус Эпштейна-Барр (EBV). Другой формой опухолеспецифичного антигена, который можно применять в сочетании с блокадой ENTPD2, являются очищенные белки теплового шока (HSP), выделенные из самой опухолевой ткани. Такие белки теплового шока содержат фрагменты белков из опухолевых клеток, и эти HSP являются весьма эффективными при доставке в антигенпрезентирующие клетки для вызывания противоопухолевого иммунитета (Suot, R & Srivastava, P (1995) Science 269:1585-1588; Tamura, Y. et al. (1997) Science 278:117-120).

Дендритные клетки (DC) являются активными антигенпрезентирующими клетками, которые можно применять для инициирования антигенспецифических ответов. DC могут быть получены ex vivo и нагружены различными белковыми и пептидными антигенами, а также экстрактами опухолевых клеток (Nestle, F. et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332). DC также могут быть трансдуцированы генетическим путем, чтобы они также экспрессировали эти опухолевые антигены. Также проводили прямое слияние DC с опухолевыми клетками в целях иммунизации (Kugler, A. et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336). В качестве способа вакцинации иммунизацию с помощью DC можно эффективно применять в комбинации с блокадой CD73 для активации более сильных противоопухолевых ответов.

Иллюстративные онколитические вирусы

Молекулы антител к ENTPD2 человека можно вводить в комбинации с онколитическими вирусами. В ряде вариантов осуществления онколитические вирусы способны избирательно реплицироваться в раковой клетке и запускать ее гибель или замедлять ее рост. В некоторых случаях онколитические вирусы не обеспечивают эффект или обеспечивают минимальный эффект в отношении нераковых клеток. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе. Онколитический вирус включает без ограничения онколитический аденовирус, онколитические вирусы простого герпеса, онколитический ретровирус, онколитический парвовирус, онколитический вирус осповакцины, онколитический вирус Синдбис, онколитический вирус гриппа или онколитический РНК-содержащий вирус (например, онколитический реовирус, онколитический вирус

ньюкаслской болезни (NDV), онколитический вирус кори или онколитический вирус везикулярного стоматита (VSV)).

Иллюстративные онколитические вирусы включают без ограничения следующие:

онколитический аденовирус группы B (ColoAd1) (PsiOxus Therapeutics Ltd.) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT02053220);

ONCOS-102 (ранее называемый CGTG-102), который представляет собой аденовирус, содержащий гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) (Oncos Therapeutics) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01598129);

VCN-01, который представляет собой генетически модифицированный онколитический аденовирус человека, кодирующий гиалуронидазу PH20 человека (VCN Biosciences, S.L.) (см., например, клинические испытания с идентификационными номерами NCT02045602 и NCT02045589);

условно-репликативный аденовирус ICOVIR-5, который представляет собой вирус, полученный из аденовируса человека дикого типа серотипа 5 (Had5), который был модифицирован для избирательной репликации в раковых клетках с нарушенной регуляцией сигнального пути белок ретинобластомы/E2F (Каталонский институт онкологии) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01864759);

Celyvir, который содержит аутологичные мезенхимальные стволовые клетки, полученные из костного мозга (MSC), инфицированные онколитическим аденовирусом ICOVIR5 (Университетская детская больница Ниньо Хесус, Мадрид, Испания/Ramon Alemany) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01844661);

CG0070, который представляет собой условно-репликативный онколитический аденовирус серотипа 5 (Ad5), в котором промотор E2F-1 человека управляет экспрессией существенно важных генов вируса E1a, за счет чего обеспечивается ограничение вирусной репликации и цитотоксичности опухолевыми клетками, дефектными по сигнальному пути Rb (Cold Genesys, Inc.) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT02143804); или

DNX-2401 (ранее называемый Delta-24-RGD), который представляет собой аденовирус, который был сконструирован для избирательной репликации в клетках, дефектных по сигнальному пути белка ретинобластомы (Rb), и для более эффективного инфицирования клеток, которые экспрессируют определенные интегрины, связывающиеся с RGD (Клиника Наваррского университета, Наваррский университет/DNAtrix, Inc.) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01956734).

В некоторых вариантах осуществления онколитический вирус, описанный в данном документе, вводят с помощью инъекции, например, подкожной, внутриартериальной, внутривенной, внутримышечной, интратекальной или

внутрибрюшинной инъекции. В ряде вариантов осуществления онколитический вирус, описанный в данном документе, вводят внутриопухолевым, чрескожным, чресслизистым, пероральным, интраназальным путем или посредством легочного введения.

Дополнительные иллюстративные виды терапии рака

Иллюстративные комбинации молекул антител к ENTPD2 человека (по отдельности или в комбинации с другими стимулирующими средствами) и стандарта оказания медицинской помощи при раке включают по меньшей мере следующее. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, например, молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, применяют в комбинации с химиотерапевтическим средством, представляющим собой стандарт оказания медицинской помощи при раке, включающим без ограничения анастрозол (Arimidex®), бикалутамид (Casodex®), сульфат блеомицина (Blenoxane®), бусульфан (Myleran®), бусульфан для инъекций (Busulfex®), капецитабин (Xeloda®), N4-пентоксикарбонил-5-дезокси-5-фторцитидин, карбоплатин (Paraplatin®), кармустин (BiCNU®), хлорамбуцил (Leukeran®), цисплатин (Platinol®), кладрибин (Leustatin®), циклофосфамид (Cytoxan® или Neosar®), цитарабин, арабинозид цитозина (Cytosar-U®), липосомальный цитарабин для инъекций (DepoCyt®), дакарбазин (DTIC-Dome®), дактиномицин (актиномицин D, Cosmegan), гидрохлорид даунорубицина (Cerubidine®), липосомальный цитрат даунорубицина для инъекций (DaunoXome®), дексаметазон, доцетаксел (Taxotere®), гидрохлорид доксорубицина (Adriamycin®, Rubex®), этопозид (Vepesid®), фосфат флударабина (Fludara®), 5-фторурацил (Adrucil®, Efudex®), флутамид (Eulexin®), тезацитибин, гемцитабин (дифтордезоксицитидин), гидроксимочевину (Hydrea®), идарубицин (Idamycin®), ифосфамид (IFEX®), иринотекан (Camptosar®), L-аспарагиназу (ELSPAR®), лейковорин кальция, мелфалан (Alkeran®), 6-меркаптопурин (Purinethol®), метотрексат (Folex®), митоксантрон (Novantrone®), милотарг, паклитаксел (Taxol®), феникс (иттрий-90/MX-DTPA), пентостатин, имплантат с полифепрозаном 20 и кармустином (Gliadel®), цитрат тамоксифена (Nolvadex®), тенипозид (Vumon®), 6-тиогуанин, тиотепу, тирапазамин (Tirazone®), гидрохлорид топотекана для инъекций (Hycamptin®), винбластин (Velban®), винкристин (Oncovin®), винорелбин (Navelbine®), ибрутиниб, иделализиб и конъюгат брентуксимаб-ведотин.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, например, молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, применяют в комбинации с алкилирующим средством, включающим без ограничения азотистые иприты, производные этиленимина, алкилсульфонаты, нитрозомочевины и триазены; урациловый иприт (Aminouracil Mustard®, Chlorethaminacil®, Demethyldopan®, Desmethyldopan®, Haemanthamine®, Nordopan®, Uracil nitrogen mustard®, Uracillost®, Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®), хлорметин (Mustargen®), циклофосфамид (Cytoxan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune™), ифосфамид (Mitoxana®), мелфалан (Alkeran®), хлорамбуцил (Leukeran®), пипоброман (Amedel®, Vercyte®), триэтиленмеламин (Hemel®, Hexalen®, Hexastat®), триэтилентиофосфорамин,

темозоломид (Temodar®), тиотепу (Thioplex®), бусульфан (Busilvex®, Myleran®), кармустин (BiCNU®), ломустин (CeeNU®), стрептозоцин (Zanosar®) и дакарбазин (DTIC-Dome®). Дополнительные иллюстративные алкилирующие средства включают без ограничения оксалиплатин (Eloxatin®); темозоломид (Temodar® и Temodal®); дактиномицин (также известный как актиномицин-D, Cosmegen®); мелфалан (также известный как L-PAM, L-сарколизин и фенилаланиновый иприт, Alkeran®); алтретамин (также известный как гексаметилмеламин (HMM), Hexalen®); кармустин (BiCNU®); бендамустин (Treanda®); бусульфан (Busulfex® и Myleran®); карбоплатин (Paraplatin®); ломустин (также известный как CCNU, CeeNU®); цисплатин (также известный как CDDP, Platinol® и Platinol®-AQ); хлорамбуцил (Leukeran®); циклофосфамид (Cytoxan® и Neosar®); дакарбазин (также известный как DTIC, DIC и имидазолкарбоксамид, DTIC-Dome®); алтретамин (также известный как гексаметилмеламин (HMM), Hexalen®); ифосфамид (Ifex®); преднумустин; прокарбазин (Matulane®); мехлорэтамин (также известный как азотистый иприт, мустин и гидрохлорид мехлорэтамина, Mustargen®); стрептозоцин (Zanosar®); тиотепу (также известную как тиофосфамид, TESPA и TSPA, Thioplex®); циклофосфамид (Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune®) и бендамустин-HCl (Treanda®).

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека, например, молекулу антитела к ENTPD2 человека, описанную в данном документе, применяют в комбинации с антрациклинами, включающими без ограничения, например, доксорубицин (Adriamycin® и Rubex®); блеомицин (Lenoxane®); даунорубицин (гидрохлорид даунорубицина, дауномицин и гидрохлорид рубидомицина, Cerubidine®); липосомальный даунорубицин (липосомальный цитрат даунорубицина, DaunoXome®); митоксантрон (DHAD, Novantrone®); эпирубицин (Ellence™); идарубицин (Idamycin®, Idamycin PFS®); митомицин C (Mutamycin®); гелданамицин; гербимицин; равидомицин и дезацетилравидомицин. Иллюстративные алкалоиды барвинка, которые можно применять в комбинации с молекулами антител к ENTPD2 человека, включают без ограничения тартрат винорелбина (Navelbine®), винкристин (Oncovin®) и виндезин (Eldisine®); винбластин (также известный как сульфат винбластина, винкалейкобластин и VLB, Alkaban-AQ® и Velban®) и винорелбин (Navelbine®).

Иллюстративные ингибиторы протеасом, которые можно применять в комбинации с антителом к ENTPD2 человека, описанным в данном документе, включают без ограничения бортезомиб (Velcade®); карфилзомиб (PX-171-007, (S)-4-метил-N-((S)-1-(((S)-4-метил-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопентан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетамидо)-4-фенилбутанамидо)-пентанамид; маризомиб (NPI-0052); цитрат иксазомиба (MLN-9708); деланзомиб (CEP-18770) и O-метил-N-[(2-метил-5-тиазолил)карбонил]-L-серил-O-метил-N-[(1S)-2-[(2R)-2-метил-2-оксиранил]-2-оксо-1-(фенилметил)этил]-L-серинамид (ONX-0912).

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к ENTPD2 человека вводят в комбинации с лучевой терапией. Лучевую терапию можно осуществлять с

помощью одного из нескольких способов или комбинации способов, в том числе без ограничения дистанционной лучевой терапии, внутренней лучевой терапии, имплантации источника излучения, стереотаксической радиохирургии, системной лучевой терапии, радиотерапии и постоянной или временной интерстициальной брахитерапии. Термин "брахитерапия" относится к лучевой терапии, осуществляемой с помощью пространственно ограниченного радиоактивного материала, введенного в организм в очаг опухоли или в другой очаг пролиферативного заболевания ткани или рядом с ним. Данный термин предполагает без ограничения включение воздействия радиоактивных изотопов (например, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32 и радиоактивных изотопов Lu). Подходящие источники излучения для применения в качестве средства для кондиционирования клеток по настоящему изобретению включают как твердые вещества, так и жидкости. В качестве неограничивающего примера, источник излучения может представлять собой радионуклид, такой как I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 в качестве твердого источника, I-125 в качестве твердого источника или другие радионуклиды, которые испускают фотоны, бета-частицы, гамма-излучение или другие терапевтические лучи. Радиоактивный материал также может представлять собой жидкость, полученную из любого раствора радионуклида(радионуклидов), например, раствора I-125 или I-131, или радиоактивную жидкость можно получить с использованием взвеси в подходящей жидкости, содержащей мелкие частицы твердых радионуклидов, таких как Au-198, Y-90.

Блокаду ENTPD2 также можно эффективно применять в комбинации с химиотерапевтическими режимами. В этих случаях возможно снизить дозу вводимого химиотерапевтического реагента.

Иллюстративные цитотоксические средства, которые можно вводить в комбинации с молекулой антитела к ENTPD2 человека, включают средства, ингибирующие образование микротрубочек, ингибиторы топоизомераз, антиметаболиты, ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антрациклины, алкалоиды барвинка, интеркалирующие средства, средства, способные препятствовать пути передачи сигнала, средства, которые стимулируют апоптоз, ингибиторы протеасом и излучение (например, при местном или общем облучении тела).

Получение образцов

Образцы, используемые в способах, описанных в данном документе, можно получать от субъекта с применением любого из способов, известных из уровня техники, например, с помощью биопсии или хирургического вмешательства. Образец можно подвергнуть мгновенной заморозке и хранить при -80°C для последующего применения. Образец также можно фиксировать с помощью фиксирующего средства, такого как формальдегид, параформальдегид или смесь уксусная кислота/этанол. РНК или белок можно экстрагировать из свежего, замороженного или фиксированного образца для анализа.

Фармацевтические композиции, дозы и способы введения

Также в данном документе предусмотрены композиции, например, фармацевтические композиции, для применения в лечении ENTPD2-ассоциированного заболевания, например, рака, описанного в данном документе. Такие композиции содержат одно или несколько антител или антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном документе, нуклеиновых кислот, кодирующих такие антитела или антигенсвязывающие фрагменты, или векторов, содержащих нуклеиновую кислоту, кодирующую такие антитела или антигенсвязывающие фрагменты. Такие композиции могут дополнительно содержать другое средство, например, современный стандарт оказания медицинской помощи при заболевании, которое подлежит лечению.

Фармацевтические композиции, как правило, содержат фармацевтически приемлемый носитель. Используемая в данном документе формулировка "фармацевтически приемлемый носитель" включает солевой раствор, растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические средства и средства, замедляющие всасывание, и т. п., совместимые с фармацевтическим введением. Фармацевтические композиции, как правило составляют таким образом, чтобы они были совместимы с предполагаемым путем их введения. Примеры путей введения включают парентеральное (например, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное), внутричерепное, интратекальное или интраназальное (например, ингаляционное), внутрикожное, подкожное или внутриопухолевое введение.

Фраза "фармацевтически приемлемый" используется в данном документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые с медицинской точки зрения подходят для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения в соответствии с разумным соотношением польза/риск.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, включающих, например, ионообменные материалы, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, полиакрилаты, воски, блок-сополимеры полиэтилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и ланолин.

Способы составления подходящих фармацевтических композиций известны из уровня техники, см., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 21st ed., 2005; и книги серии Drugs and the Pharmaceutical Sciences: a Series of Textbooks and Monographs (Dekker, NY). Например, растворы или суспензии, используемые для

парентерального или подкожного применения, могут содержать следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, солевой раствор, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и средства для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Значение pH можно корректировать с помощью кислот или оснований, таких как хлористоводородная кислота или гидроксид натрия. Препарат может быть заключен в ампулы, одноразовые шприцы или многодозовые флаконы, изготовленные из стекла или пластика.

Фармацевтические композиции, подходящие для инъекционного применения, могут включать стерильные водные растворы (в случае растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для получения стерильных инъекционных растворов или дисперсии для немедленного приема. Подходящие носители для внутривенного введения включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, Cremophor EL™ (BASF, Парсиппани, Нью-Джерси) или фосфатно-солевой буферный раствор (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и должна быть текучей до такой степени, чтобы ее можно было легко вводить через шприц. Она должна быть стабильной в условиях изготовления и хранения и должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащие, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т. п.) и их подходящие смеси. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, посредством применения покрытия, такого как лецитин, посредством поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и посредством применения поверхностно-активных веществ. Предотвращения действия микроорганизмов можно достичь с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т. п. Во многих случаях предпочтительным будет включение в композицию изотонических средств, например, сахаров, полиспиртов, таких как маннит, сорбит, или хлорида натрия. Длительное всасывание инъекционных композиций можно обеспечить посредством включения в композицию средства, которое замедляет всасывание, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные инъекционные растворы можно получать посредством включения активного соединения в требуемом количестве в подходящий растворитель с одним ингредиентом или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости с последующей стерилизующей фильтрацией.

Обычно дисперсии получают посредством включения активного соединения в стерильную среду-носитель, которая содержит основную дисперсионную среду и другие требуемые ингредиенты из тех, которые перечислены выше. В случае стерильных

порошков для получения стерильных инъекционных растворов предпочтительными способами получения являются вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые позволяют получить порошкообразный активный ингредиент с любым дополнительным необходимым ингредиентом из их раствора, предварительно подвергнутого стерилизующей фильтрации.

Составы для парентерального введения могут представлять собой однократную болюсную дозу, инфузионную форму или нагрузочную болюсную дозу с последующей поддерживающей дозой. Такие композиции можно вводить с определенными фиксированными или варьирующимися промежутками, например, один раз в день или "при необходимости".

Подходящие фармацевтические композиции для инъекций могут содержать буфер (например, ацетатный, фосфатный или цитратный буфер), поверхностно-активное вещество (например, полисорбат), необязательно стабилизирующее средство (например, человеческий альбумин) и т. д. Препараты для периферического введения включают стерильные водные или неводные растворы, суспензии и эмульсии. Примерами неводных растворителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают, например, воду, спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, в том числе солевой раствор и буферные среды. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит 0,01-0,1 М фосфатный буфер или 0,8% солевой раствор. Другие распространенные среды-носители для парентерального введения включают растворы фосфата натрия, раствор Рингера с декстрозой, декстрозу и хлорид натрия, раствор Рингера с лактатом или нелетучие масла. Среды-носители для внутривенного введения включают средства для восполнения жидкости и питательных веществ, средства для восполнения электролитов, такие как средства на основе раствора Рингера с декстрозой, и т. п. Также могут присутствовать консерванты и другие добавки, такие как, например, противомикробные средства, антиоксиданты, хелатирующие средства и инертные газы и т. п.

В одном варианте осуществления терапевтические соединения получают с носителями, которые будут защищать терапевтические соединения от быстрого выведения из организма, как, например, в составе с контролируемым высвобождением, в том числе в имплантатах и микроинкапсулированных системах доставки.

Фармацевтические композиции можно включать в контейнер, упаковку или дозатор вместе с инструкциями по введению.

Дозу, токсичность и терапевтическую эффективность терапевтических соединений можно определять с помощью стандартных фармацевтических процедур в культурах клеток или у экспериментальных животных, например, для определения LD50 (дозы, смертельной для 50% особей в популяции) и ED50 (дозы, терапевтически эффективной для 50% особей в популяции). Соотношение доз между токсичным и терапевтическим эффектами представляет собой терапевтический индекс и может быть выражено как

соотношение LD50/ED50. Соединения, которые демонстрируют высокие терапевтические индексы, являются предпочтительными. Хотя соединения, которые демонстрируют токсичные побочные эффекты, можно применять, но следует позаботиться о разработке системы доставки, которая направляет такие соединения в очаг поражения ткани, с целью сведения к минимуму потенциального повреждения неинфицированных клеток и снижения таким образом побочных эффектов.

Данные, полученные из анализов культур клеток и исследований на животных, можно использовать для составления диапазона доз для применения у людей. Доза таких соединений предпочтительно находится в пределах диапазона циркулирующих концентраций, который включает ED50 с небольшой или отсутствующей токсичностью. Доза может варьироваться в пределах данного диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы и используемого пути введения. Для любого соединения, применяемого в способе по настоящему изобретению, терапевтически эффективную дозу можно вначале оценить с помощью анализов культур клеток. Дозу можно составлять в животных моделях с достижением диапазона циркулирующих концентраций в плазме крови, который включает IC50 (т. е. концентрацию тестируемого соединения, при которой достигается полумаксимальное ингибирование симптомов), определенную в культуре клеток. Такую информацию можно использовать для более точного определения применимых доз у людей. Уровни в плазме крови можно измерить, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

НАБОРЫ

Также в данном документе предусмотрены наборы, содержащие одно или несколько из композиций, предусмотренных в данном документе, и инструкций по применению. Инструкции по применению могут включать инструкции по диагностике или лечению ENTPD2-ассоциированного заболевания, например, рака, описанного в данном документе. Наборы, предусмотренные в данном документе, можно применять в соответствии с любым из способов, описанных в данном документе. Специалистам в данной области будут известны другие подходящие пути применения наборов, предусмотренных в данном документе, и они смогут использовать эти наборы для таких путей применения. Наборы, предусмотренные в данном документе, также могут содержать оболочку почтового отправления (например, конверт с предварительно оплаченным почтовым сбором или почтовую упаковку), которая может использоваться для возвращения образца для анализа, например, в лабораторию. Набор может содержать один или несколько контейнеров для образца, или образец может находиться в стандартном флаконе для сбора крови. Набор также может содержать одно или несколько из формы информированного согласия, формы заявки на тестирование и инструкций по применению набора в способе, описанном в данном документе. Способы применения таких наборов также включены в данный документ. Одна или несколько из форм (например, форма заявки на тестирование) и контейнер, содержащий образец, могут быть закодированы, например, штрих-кодом для идентификации субъекта, который

предоставил образец.

Специалисту в данной области будут понятны многие способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, которые можно применять при осуществлении на практике настоящего изобретения. Следует отметить, что настоящее изобретение никоим образом не ограничено описанными способами и материалами.

ПРИМЕРЫ

Хотя были обсуждены конкретные варианты осуществления рассматриваемого изобретения, приведенное выше описание является иллюстративным, а не ограничивающим. Многие видоизменения настоящего изобретения станут очевидными для специалистов в данной области после ознакомления с настоящим описанием и нижеприведенной формулой изобретения. Полный объем настоящего изобретения должен определяться посредством ссылки на пункты формулы изобретения наряду с полным объемом их эквивалентов, а также на описание наряду с такими видоизменениями. Настоящее изобретение дополнительно описано в следующих примерах, которые не ограничивают объем настоящего изобретения, описанный в формуле изобретения.

Пример 1. Экспрессия ENTPD2 при раке

Эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 2 (также называемая ENTPD2, NTPDазой 2, NTPDазой-2, экто-АТРазой 2, экто-АТРDазой 2, белком 1, подобным антигену CD39, CD39L1, экто-АТР-дифосфогидролазой 2) принадлежит к семейству внеклеточных АТР-гидролаз, которые регулируют пуринергическую передачу сигнала, в частности, опосредованную ATP, UTP, а также ADP и UDP, во внеклеточном пространстве (в отношении обзора см. Robson et al Purinergic Signaling 2:409-430 (2006)). 5'-AMP, являющийся конечным продуктом гидролиза ATP/ADP, затем дефосфорилируется до аденозина под действием экто-5'-нуклеотидазы (также известной как экто-5'NTаза или CD73).

Функциональная роль ENTPD2 при раке не была хорошо описана. В ранних сообщениях внимание было сосредоточено на сверхэкспрессии ENTPD2 в крысиной модели глиомы, которая приводила к усиленному росту опухоли in vivo посредством ADP-опосредованного модулирования тромбоцитов и микроокружения опухоли, а также способствовала воспалительному состоянию, усиливающему распространение опухоли (Braganhol et al Cancer Sci 100(8): 1434-42 (2009); Braganhol et al Purinergic Signal 8(2):235-43 (2012)). В последнее время сообщалось о повышенной экспрессии ENTPD2 в гепатоцеллюлярной карциноме, где его экспрессия была ассоциирована с неблагоприятным прогнозом ввиду повышенного накопления/поддержания супрессорных клеток миелоидного происхождения (Chiu et al Nature Communications 8(1): 517 (2017)).

Хотя находящиеся в открытом доступе данные об определении функциональных характеристик ENTPD2 при раке ограничены, было показано, что медиаторы пуринергической передачи сигнала, высвобождающиеся во внеклеточное пространство, такие как АТР и аденозин, играют важную роль в иммунитете и воспалении. АТР,

высвобождающийся из подвергнутых стрессу, поврежденных или апоптотических клеток, запускает быстрое воспаление посредством активации рецепторов P2RX и P2RY, которые повышают привлечение иммунных клеток, усиливают передачу сигнала от TCR в Т-клетках и способствуют активации дендритных клеток и макрофагов. С другой стороны, передача сигнала, опосредованная аденозином, приводит к образованию иммуносупрессивной ниши посредством ингибирования эффекторных Т-клеток, а также нарушения регуляции функции мононуклеарных клеток-фагоцитов (в отношении обзора см. Cekic et al Nature Reviews Immunology 16: 177-192 (2016), Antonioli et al Nature Reviews Cancer 13: 842-857 (2013)). В доклинических исследованиях было продемонстрировано, что блокада передачи сигнала, опосредованной аденозином, или восстановление уровней внеклеточного ATP в очаге опухоли индуцирует привлечение лимфоцитов и противоопухолевые ответы (Michaud et al Science 334(6062): 1573-7 (2011); Allard et al Clinical Cancer Research 19(20): 5626-35 (2013)).

Повышенная экспрессия ENTPD2 в раковых клетках потенциально может привести к существенному изменению баланса пуринергической передачи сигналов в микроокружении опухоли, смещая его в сторону более иммуносупрессивного состояния. Целенаправленное ингибирование каталитической функции ENTPD2 может, следовательно, обеспечивать возможность сдвига баланса в сторону ATP-управляемого провоспалительного состояния Th-1-подобного типа, усиливая противоопухолевый иммунный ответ.

Экспрессия ENTPD2 в различных подтипах опухолей тщательно не изучалась. Антитело mAb1 к ENTPD2 человека применяли для оценки экспрессии ENTPD2 в разных линиях раковых клеток при различных показаниях. Клетки окрашивали с помощью антитела mAb1 к ENTPD2 человека при 5 мкг/мл в течение 45 мин. на льду с последующим инкубированием с Fcγ-специфичным вторичным Ab козы к IgG человека, конъюгированным с Alexa Fluor 647 или APC (разведение 1:400; Jackson ImmunoResearch Laboratories, Вест-Гроув, Пенсильвания). Все процедуры инкубирования и промывания проводили в буфере для FACS, состоящем из 1x фосфатно-солевого буферного раствора HyClone (GE Healthcare, Питтсбург, Пенсильвания), 1% фетальной бычьей сыворотки крови HyClone (GE Healthcare, Питтсбург, Пенсильвания), 2 мМ EDTA (ThermoFisher, Уолтем, Массачусетс).

Повышенная экспрессия ENTPD2 наблюдалась в иллюстративных линиях раковых клеток при показаниях рака ободочной и прямой кишки, пищевода, желудка, молочной железы и легкого, как показано на фиг. 1A. Плотность рецепторов ENTPD2 определяли количественно с помощью Quantum Simply Cellular с антителом к IgG человека от Bangs Laboratories (Фишерс, Индиана) согласно указаниям производителя (таблица 20, фиг. 1B).

С целью оценки экспрессии белка ENTPD2 в тканях первичных опухолей фиксированные в формалине и залитые в парафин микроматрицы опухолевых тканей с соответствующими соседними нормальными тканями получали от Cureline (Брисбен, Калифорния). IHC-окрашивание проводили с помощью Ab к CD39L1/ENTPD2 для IHC

(NBP1-85752, Novus, Литлтон, Колорадо) с использованием автоматизированного протокола Ventana со стандартным методом демаскирования антигена CC1 при высоком pH и 95˚C и с последующими инкубированиями с конъюгированным с HRP вторичным Ab к Rb Ventana DISCOVERY® OmniMap и набором на основе DAB Ventana DISCOVERY® ChromoMap (Ventana, Тусон, Аризона).

Повышенная экспрессия ENTPD2, локализованного на клеточной мембране, наблюдалась в подгруппах образцов опухолей ободочной и прямой кишки, пищевода и яичника. В срезах соответствующих нормальных тканей не были выявлены или были выявлены очень низкие фоновые уровни экспрессии ENTPD2 (фиг. 2).

Пример 2. Получение гуманизированных моноклональных антител, которые связываются с ENTPD2 человека

Получение конструкций для экспрессии ENTPD2 человека, крысы, мыши и макака-крабоеда

Нуклеотидные последовательности, кодирующие полноразмерный ENTPD2 человека, макака-крабоеда (Cyno), крысы и мыши, а также ENTPD1 (CD39) человека и мыши, синтезировали на основе информации об аминокислотных последовательностях из баз данных GenBank® или UniProtKB (см. таблицу 24). Все синтезированные фрагменты ДНК клонировали в соответствующие векторы экспрессии.

Таблица 24. Последовательности реагентов, используемых для получения антитела к ENTPD2

ENTPD2 человека: NP_982293	
SEQ ID NO: 291	MAGKVRSLLPPLLLAAAGLAGLLLLCVPTRDVREPPALKY GIVLDAGSSHTSMFIYKWPADKENDTGIVGQHSSCDVPGG GISSYADNPSGASQSLVGCLEQALQDVPKERHAGTPLYLG ATAGMRLLNLTNPEASTSVLMAVTHTLTQYPFDFRGARIL SGQEEGVFGWVTANYLLENFIKYGWVGRWFRPRKGTLGA MDLGGASTQITFETTSPAEDRASEVQLHLYGQHYRVYTHS FLCYGRDQVLQRLLASALQTHGFHPCWPRGFSTQVLLGD VYQSPCTMAQRPQNFNSSARVSLSGSSDPHLCRDLVSGLF SFSSCPFSRCSFNGVFQPPVAGNFVAFSAFFYTVDFLRTSM GLPVATLQQLEAAAVNVCNQTWAQLQARVPGQRARLAD YCAGAMFVQQLLSRGYGFDERAFGGVIFQKKAADTAVG WALGYMLNLTNLIPADPPGLRKGTDFSSWVVLLLLFASAL LAALVLLLRQVHSAKLPSTI
SEQ ID NO: 342	ATGGCCGGGAAGGTGCGGTCACTGCTGCCGCCGCTGCT GCTGGCCGCCGCGGGCCTCGCCGGCCTCCTACTGCTGTG

	CGTCCCCACCCGCGACGTCCGGGAGCCGCCCGCCCTCA AGTATGGCATCGTCCTGGACGCTGGTTCTTCACACACGT CCATGTTTATCTACAAGTGGCCGGCAGACAAGGAGAAC GACACAGGCATTGTGGGCCAGCACAGCTCCTGTGATGTT CCAGGTGGGGGCATCTCCAGCTATGCAGACAACCCTTCT GGGGCCAGCCAGAGTCTTGTTGGATGCCTCGAACAGGC GCTTCAGGATGTGCCCAAAGAGAGACACGCGGGCACAC CCCTCTACCTGGGAGCCACAGCGGGTATGCGCCTGCTCA ACCTGACCAATCCAGAGGCCTCGACCAGTGTGCTCATG GCAGTGACTCACACACTGACCCAGTACCCCTTTGACTTC CGGGGTGCACGCATCCTCTCGGGCCAGGAAGAGGGGGT GTTTGGCTGGGTGACTGCCAACTACCTGCTGGAGAACTT CATCAAGTACGGCTGGGTGGGCCGGTGGTTCCGGCCAC GGAAGGGGACACTGGGGGCCATGGACCTGGGGGGTGCC TCTACCCAGATCACTTTTGAGACAACCAGTCCAGCTGAG GACAGAGCCAGCGAGGTCCAGCTGCATCTCTACGGCCA GCACTACCGAGTCTACACCCACAGCTTCCTCTGCTATGG CCGTGACCAGGTCCTCCAGAGGCTGCTGGCCAGCGCCC TCCAGACCCACGGCTTCCACCCCTGCTGGCCGAGGGGCT TTTCCACCCAAGTGCTGCTCGGGGATGTGTACCAGTCAC CATGCACCATGGCCCAGCGGCCCCAGAACTTCAACAGC AGTGCCAGGGTCAGCCTGTCAGGGAGCAGTGACCCCCA CCTCTGCCGAGATCTGGTTTCTGGGCTCTTCAGCTTCTCC TCCTGCCCCTTCTCCCGATGCTCTTTCAATGGGGTCTTCC AGCCCCCAGTGGCTGGGAACTTTGTGGCCTTCTCTGCCT TCTTCTACACTGTGGACTTTTTGCGGACTTCGATGGGGC TGCCCGTGGCCACCCTGCAGCAGCTGGAGGCAGCCGCA GTGAATGTCTGCAACCAGACCTGGGCTCAGCTGCAAGC TCGGGTGCCAGGGCAACGGGCCCGCCTGGCCGACTACT GCGCCGGGGCCATGTTCGTGCAGCAGCTGCTGAGTCGC GGCTACGGCTTCGACGAGCGCGCCTTCGGCGGCGTGAT CTTCCAGAAGAAGGCCGCGGACACTGCAGTGGGCTGGG CGCTCGGCTACATGCTGAACCTGACCAACCTGATCCCCG CCGACCCGCCGGGGCTGCGCAAGGGCACAGACTTCAGC TCCTGGGTCGTCCTCCTGCTGCTCTTCGCCTCCGCGCTCC

	TGGCTGCGCTTGTCCTGCTGCTGCGTCAGGTGCACTCCG CCAAGCTGCCAAGCACCATT
ENTPD2 макака-крабоеда: XP_005580409	
SEQ ID NO: 343	MAGKVRSLLPPLLLAAAGLAGLLLLCVPTRDIREPPALKY GIVLDAGSSHTSMFIYKWPADKENDTGIVGQHSSCDVPGG GISSYADNPSGAGQSLVGCLEQALRDVPKERHAGTPLYLG ATAGMRLLNLTNPEASTSVLTAVTHTLTQYPFDFRGARILS GQEEGVFGWVTANYLLENFIKYGWVGRWFRPRKGTLGA MDLGGASTQITFETTSPAEDRASEVQLRLYGQHYRVYTHS FLCYGRDQVLQRLLASALQTHSFHPCWPRGFSTHVLLGDV YQSPCTVAQRPQTFNSSARVSLSGSSDPHLCRDLVSGLFSF SSCPFSRCSFNGVFQPPVAGNFIAFSAFFYTVNFLRTSMGLP VATLQQLEAAAVNVCNQTWAQLQARVPGQQAHLADYCA GAMFVQQLLSRGYGFDERAFGGVIFQKKAADTAVGWAL GYMLNLTNLIPADPPGLRKGTDFSSWVVLLLLFASALLAA LVLLLHQVHSAKLPSTI
SEQ ID NO: 344	ATGGCCGGGAAGGTGCGGTCACTGCTGCCGCCGCTGCT GCTGGCCGCCGCGGGCCTCGCCGGCCTCCTACTGCTGTG CGTGCCCACCAGGGACATTAGGGAGCCTCCCGCTCTGA AATACGGCATCGTGCTGGACGCCGGAAGCAGCCACACC TCCATGTTCATCTACAAGTGGCCCGCCGACAAGGAGAA CGACACAGGCATCGTGGGCCAGCATAGCTCCTGCGACG TGCCTGGAGGCGGCATCTCCAGCTACGCCGACAATCCTT CCGGCGCTGGACAGTCCCTGGTGGGATGTCTGGAGCAG GCCCTGAGGGACGTGCCTAAGGAGAGACACGCCGGCAC CCCTCTGTACCTGGGAGCCACAGCCGGCATGAGACTCCT GAATCTGACCAACCCTGAGGCCTCCACCTCCGTCCTGAC AGCCGTGACACATACCCTGACCCAGTACCCCTTCGATTT CAGGGGAGCCAGAATACTGAGCGGCCAGGAAGAAGGC GTGTTCGGATGGGTGACCGCCAACTACCTCCTGGAGAA CTTCATCAAGTACGGCTGGGTGGGCAGGTGGTTTAGACC CAGGAAGGGCACCCTGGGAGCTATGGATCTGGGCGGAG CTTCCACACAGATCACCTTCGAGACCACCTCCCCCGCTG

	AGGACAGAGCCTCCGAGGTGCAGCTGAGGCTGTACGGC CAGCATTACAGGGTGTATACACACAGCTTCCTGTGCTAC GGCAGGGACCAGGTCCTGCAGAGACTGCTCGCTTCCGC CCTGCAGACCCACTCCTTCCACCCTTGCTGGCCTAGGGG CTTTAGCACCCATGTGCTCCTGGGAGATGTGTACCAGAG CCCCTGCACCGTGGCCCAAAGACCCCAGACCTTTAACTC CTCCGCTAGAGTGAGCCTGAGCGGCAGCTCCGATCCCC ACCTGTGTAGGGACCTGGTCAGCGGACTGTTCAGCTTCA GCAGCTGCCCTTTCAGCAGGTGCAGCTTCAATGGCGTGT TCCAGCCTCCCGTGGCCGGCAACTTCATCGCTTTCTCCG CCTTCTTCTACACCGTCaACTTTCTGAGGACAAGCATGG GACTGCCCGTGGCTACCCTCCAACAACTGGAGGCCGCC GCCGTGAACGTGTGCAACCAGACATGGGCCCAACTGCA GGCTAGGGTGCCCGGCCAACAGGCCCATCTGGCTGACT ACTGTGCCGGCGCCATGTTCGTGCAGCAGCTGCTGAGCA GGGGCTATGGATTCGACGAGAGGGCCTTCGGCGGCGTC ATCTTCCAAAAGAAGGCCGCCGATACAGCCGTGGGCTG GGCTCTGGGCTACATGCTGAACCTGACAAACCTGATCCC CGCTGACCCCCCCGGACTGAGGAAGGGAACCGATTTCA GCAGCTGGGTCGTGCTCCTGCTGCTGTTTGCTAGCGCCC TGCTCGCCGCTCTGGTGCTGCTGCTGCACCAGGTGCACT CCGCCAAGCTGCCCAGCACCATT
ENTPD2 мыши: NP_033979	
SEQ ID NO: 345	MAGKLVSLVPPLLLAAVGLAGLLLLCVPTQDVREPPALKY GIVLDAGSSHTSMFVYKWPADKENDTGIVGQHSSCDVRG GGISSYANDPSRAGQSLVECLEQALRDVPKDRYASTPLYL GATAGMRLLNLTSPEATAKVLEAVTQTLTRYPFDFRGARI LSGQDEGVFGWVTANYLLENFIKYGWVGRWIRPRKGTLG AMDLGGASTQITFETTSPSEDPDNEVHLRLYGQHYRVYTH SFLCYGRDQVLQRLLASALQIHRFHPCWPKGYSTQVLLRE VYQSPCTMGQRPQTFNSSATVSLSGTSNAALCRDLVSGLF NISSCPFSQCSFNGVFQPPVAGNFIAFSAFYYTVDFLKTVM GLPVGTLKQLEDATETTCNQTWAELQARVPGQQTRLPDY CAVAMFIHQLLSRGYRFDERSFRGVVFEKKAADTAVGWA

	LGYMLNLTNLIPADLPGLRKGTHFSSWVALLLLFTVLILAA LVLLLRQVRSAKSPGAL
SEQ ID NO: 346	ATGGCTGGAAAGTTGGTGTCACTGGTGCCACCCCTGCTG CTGGCTGCCGTGGGCCTCGCCGGCCTCCTGCTACTGTGC GTCCCTACCCAAGACGTCCGGGAGCCGCCCGCCCTCAA GTATGGCATCGTTCTGGATGCTGGCTCTTCACACACATC CATGTTTGTCTACAAGTGGCCAGCGGACAAGGAAAATG ACACAGGTATCGTGGGCCAGCACAGCTCTTGCGATGTTC GAGGTGGTGGCATCTCCAGCTACGCAAATGACCCTTCTA GGGCAGGCCAGAGTCTGGTTGAATGTCTTGAACAGGCA CTTCGGGATGTGCCCAAAGACAGATATGCCAGCACTCC ACTCTACCTGGGAGCTACAGCAGGCATGCGCCTACTCA ACCTGACCAGCCCAGAGGCCACAGCCAAGGTGCTGGAG GCAGTGACACAGACGCTCACACGGTACCCCTTTGACTTC CGTGGTGCCCGCATCCTCTCGGGACAGGATGAAGGGGT GTTTGGCTGGGTGACTGCCAACTACCTGCTGGAGAACTT CATCAAGTATGGCTGGGTAGGCCGGTGGATACGGCCAA GGAAGGGAACTCTGGGGGCCATGGACCTTGGGGGTGCC TCAACACAGATCACCTTTGAGACAACCAGTCCATCTGAA GATCCAGATAATGAGGTCCATTTGCGGCTCTATGGCCAG CATTACCGTGTCTACACCCATAGCTTCCTCTGCTATGGC CGGGACCAGGTTCTCCAGAGGCTTCTGGCCAGTGCCCTC CAGATCCATCGCTTCCACCCCTGCTGGCCAAAGGGCTAC TCCACCCAAGTGCTGCTCCGGGAAGTCTACCAGTCTCCA TGCACTATGGGTCAGCGTCCCCAGACCTTCAACAGCAGT GCCACTGTCAGCCTGTCAGGGACCAGCAACGCTGCCCT CTGTCGTGACCTCGTCTCTGGGCTCTTCAATATCTCCTCC TGTCCCTTTTCCCAATGCTCCTTCAATGGGGTTTTCCAGC CTCCCGTGGCTGGGAACTTCATAGCCTTTTCTGCTTTCTA CTATACTGTAGACTTCCTGAAGACAGTGATGGGGCTGCC TGTGGGAACCCTGAAGCAGCTGGAGGATGCCACAGAGA CCACCTGCAACCAGACCTGGGCTGAGCTTCAGGCCCGA GTACCCGGACAGCAGACCCGCCTGCCTGACTACTGCGC TGTAGCCATGTTCATACATCAGCTATTGAGCCGCGGTTA TCGCTTCGACGAGCGCTCTTTCCGTGGAGTGGTCTTCGA

	AAAGAAGGCGGCAGACACGGCTGTCGGCTGGGCGCTGG GCTACATGCTGAATTTGACCAACCTGATTCCCgctgacctccc gggactacgtaagggcacccacTTCAGCTCCTGGGTTGCTCTCCTGC TGCTCTTCACAGTCCTGATCTTGGCGGCTTTGGTCCTGCT CTTGCGCCAGGTGCGCTCTGCCAAGTCCCCAGGCGCCCT C
ENTPD2 крысы: NP_742027	
SEQ ID NO: 347	MAGKLVSLVPPLLLAAAGLAGLLLLCVPTQDVREPPALKY GIVLDAGSSHTSMFVYKWPADKENDTGIVGQHSSCDVQG GGISSYANDPSKAGQSLVRCLEQALRDVPRDRHASTPLYL GATAGMRLLNLTSPEATARVLEAVTQTLTQYPFDFRGARI LSGQDEGVFGWVTANYLLENFIKYGWVGRWIRPRKGTLG AMDLGGASTQITFETTSPSEDPGNEVHLRLYGQHYRVYTH SFLCYGRDQILLRLLASALQIHRFHPCWPKGYSTQVLLQEV YQSPCTMGQRPRAFNGSAIVSLSGTSNATLCRDLVSRLFNI SSCPFSQCSFNGVFQPPVTGNFIAFSAFYYTVDFLTTVMGL PVGTLKQLEEATEITCNQTWTELQARVPGQKTRLADYCAV AMFIHQLLSRGYHFDERSFREVVFQKKAADTAVGWALGY MLNFTNLIPADLPGLRKGTHFSSWVALLLLFTVLILAALVL LLRQVRSAKSPGAL
SEQ ID NO: 348	ATGGCTGGAAAGTTGGTGTCACTGGTGCCACCCCTGCTG CTGGCTGCCGcGGGCCTCGCCGGCCTCCTGCTACTGTGC GTCCCTACCCAAGACGTCCGGGAGCCGCCCGCCCTCAA GTATGGCATCGTTCTGGATGCTGGCTCTTCACACACATC CATGTTTGTCTACAAGTGGCCAGCGGACAAGGAAAATG ACACAGGTATCGTGGGCCAGCACAGCTCCTGCGATGTG CAGGGCGGCGGCATTTCCAGCTATGCCAACGACCCCTC CAAAGCCGGACAGTCCCTGGTCAGGTGCCTGGAGCAGG CCCTGAGAGACGTCCCCAGAGACAGACACGCGAGCACC CCTCTGTATCTCGGCGCCACAGCCGGCATGAGGCTGCTG AACCTGACCTCCCCTGAGGCCACAGCCAGAGTCCTGGA GGCTGTCACCCAGACCCTGACACAGTACCCCTTCGACTT TAGGGGCGCCAGAATACTGTCCGGCCAGGATGAAGGCG TGTTCGGCTGGGTGACAGCCAACTACCTGCTGGAGAACT

	TTATTAAGTACGGCTGGGTGGGCAGATGGATCAGGCCC AGGAAGGGCACCCTGGGAGCCATGGATCTCGGCGGAGC CTCCACCCAGATCACCTTTGAGACCACCAGCCCCTCCGA AGACCCGGGCAATGAGGTCCACCTGAGGCTGTACGGCC AGCACTATAGAGTCTACACCCACAGCTTCCTGTGCTACG GCAGAGATCAAATCCTGCTGAGACTGCTCGCTTCCGCCC TGCAGATTCATAGGTTTCACCCCTGCTGGCCCAAAGGCT ACAGCACCCAGGTGCTGCTCCAAGAGGTGTACCAGAGC CCTTGCACCATGGGACAGAGACCCAGGGCTTTCAACGG AAGCGCCATCGTGTCCCTCAGCGGCACCAGCAACGCCA CCCTGTGTAGGGACCTCGTGAGCAGACTGTTCAACATCT CCTCCTGCCCTTTCAGCCAGTGTTCCTTCAATGGCGTGTT TCAGCCCCCTGTGACAGGCAACTTCATCGCCTTCAGCGC TTTCTACTACACCGTGGACTTTCTCACAACCGTCATGGG CCTGCCCGTGGGAACCCTGAAGCAACTGGAGGAAGCCA CCGAGATCACCTGCAACCAGACCTGGACCGAACTGCAA GCCAGGGTGCCCGGCCAGAAGACCAGACTGGCCGACTA CTGTGCTGTCGCCATGTTCATTCACCAACTGCTGAGCAG GGGCTACCACTTCGATGAAAGGAGCTTCAGGGAGGTGG TGTTCCAGAAGAAGGCCGCCGATACCGCTGTGGGCTGG GCTCTGGGCTACATGCTCAACTTCACCAACCTGATCCCC gccgatctccccggactgaggaagggaacccacTTCAGCTCCTGGGTTGC TCTCCTGCTGCTCTTCACAGTCCTGATCTTGGCGGCTTTG GTCCTGCTCTTGCGCCAGGTGCGCTCTGCCAAGTCCCCA GGCGCCCTC
ENTPD1 человека: NP_001767	
SEQ ID NO: 349	MEDTKESNVKTFCSKNILAILGFSSIIAVIALLAVGLTQNKA LPENVKYGIVLDAGSSHTSLYIYKWPAEKENDTGVVHQVE ECRVKGPGISKFVQKVNEIGIYLTDCMERAREVIPRSQHQE TPVYLGATAGMRLLRMESEELADRVLDVVERSLSNYPFDF QGARIITGQEEGAYGWITINYLLGKFSQKTRWFSIVPYETN NQETFGALDLGGASTQVTFVPQNQTIESPDNALQFRLYGK DYNVYTHSFLCYGKDQALWQKLAKDIQVASNEILRDPCF HPGYKKVVNVSDLYKTPCTKRFEMTLPFQQFEIQGIGNYQ

	QCHQSILELFNTSYCPYSQCAFNGIFLPPLQGDFGAFSAFYF VMKFLNLTSEKVSQEKVTEMMKKFCAQPWEEIKTSYAGV KEKYLSEYCFSGTYILSLLLQGYHFTADSWEHIHFIGKIQGS DAGWTLGYMLNLTNMIPAEQPLSTPLSHSTYVFLMVLFSL VLFTVAIIGLLIFHKPSYFWKDMV
SEQ ID NO: 350	ATGGAAGATACAAAGGAGTCTAACGTGAAGACATTTTG CTCCAAGAATATCCTAGCCATCCTTGGCTTCTCCTCTATC ATAGCTGTGATAGCTTTGCTTGCTGTGGGGTTGACCCAG AACAAAGCATTGCCAGAAAACGTTAAGTATGGGATTGT GCTGGATGCGGGTTCTTCTCACACAAGTTTATACATCTA TAAGTGGCCAGCAGAAAAGGAGAATGACACAGGCGTG GTGCATCAAGTAGAAGAATGCAGGGTTAAAGGTCCTGG AATCTCAAAATTTGTTCAGAAAGTAAATGAAATAGGCA TTTACCTGACTGATTGCATGGAAAGAGCTAGGGAAGTG ATTCCAAGGTCCCAGCACCAAGAGACACCCGTTTACCT GGGAGCCACGGCAGGCATGCGGTTGCTCAGGATGGAAA GTGAAGAGTTGGCAGACAGGGTTCTGGATGTGGTGGAG AGGAGCCTCAGCAACTACCCCTTTGACTTCCAGGGTGCC AGGATCATTACTGGCCAAGAGGAAGGTGCCTATGGCTG GATTACTATCAACTATCTGCTGGGCAAATTCAGTCAGAA AACAAGGTGGTTCAGCATAGTCCCATATGAAACCAATA ATCAGGAAACCTTTGGAGCTTTGGACCTTGGGGGAGCCT CTACACAAGTCACTTTTGTACCCCAAAACCAGACTATCG AGTCCCCAGATAATGCTCTGCAATTTCGCCTCTATGGCA AGGACTACAATGTCTACACACATAGCTTCTTGTGCTATG GGAAGGATCAGGCACTCTGGCAGAAACTGGCCAAGGAC ATTCAGGTTGCAAGTAATGAAATTCTCAGGGACCCATGC TTTCATCCTGGATATAAGAAGGTAGTGAACGTAAGTGA CCTTTACAAGACCCCCTGCACCAAGAGATTTGAGATGAC TCTTCCATTCCAGCAGTTTGAAATCCAGGGTATTGGAAA CTATCAACAATGCCATCAAAGCATCCTGGAGCTCTTCAA CACCAGTTACTGCCCTTACTCCCAGTGTGCCTTCAATGG GATTTTCTTGCCACCACTCCAGGGGGATTTTGGGGCATT TTCAGCTTTTTACTTTGTGATGAAGTTTTTAAACTTGACA TCAGAGAAAGTCTCTCAGGAAAAGGTGACTGAGATGAT

	GAAAAAGTTCTGTGCTCAGCCTTGGGAGGAGATAAAAA CATCTTACGCTGGAGTAAAGGAGAAGTACCTGAGTGAA TACTGCTTTTCTGGTACCTACATTCTCTCCCTCCTTCTGC AAGGCTATCATTTCACAGCTGATTCCTGGGAGCACATCC ATTTCATTGGCAAGATCCAGGGCAGCGACGCCGGCTGG ACTTTGGGCTACATGCTGAACCTGACCAACATGATCCCA GCTGAGCAACCATTGTCCACACCTCTCTCCCACTCCACC TATGTCTTCCTCATGGTTCTATTCTCCCTGGTCCTTTTCA CAGTGGCCATCATAGGCTTGCTTATCTTTCACAAGCCTT CATATTTCTGGAAAGATATGGTA
ENTPD1 мыши: NP_033978	
SEQ ID NO: 351	MEDIKDSKVKRFCSKNILIILGFTSILAVIALIAVGLTQNKPL PENVKYGIVLDAGSSHTNLYIYKWPAEKENDTGVVQQLEE CQVKGPGISKYAQKTDEIGAYLAECMELSTELIPTSKHHQT PVYLGATAGMRLLRMESEQSADEVLAAVSTSLKSYPFDFQ GAKIITGQEEGAYGWITINYLLGRFTQEQSWLSLISDSQKQ ETFGALDLGGASTQITFVPQNSTIESPENSLQFRLYGEDYTV YTHSFLCYGKDQALWQKLAKDIQVSSGGVLKDPCFNPGY EKVVNVSELYGTPCTKRFEKKLPFDQFRIQGTGDYEQCHQ SILELFNNSHCPYSQCAFNGVFLPPLHGSFGAFSAFYFVMD FFKKVAKNSVISQEKMTEITKNFCSKSWEETKTSYPSVKEK YLSEYCFSGAYILSLLQGYNFTDSSWEQIHFMGKIKDSNAG WTLGYMLNLTNMIPAEQPLSPPLPHSTYIGLMVLFSLLLVA VAITGLFIYSKPSYFWKEAV
SEQ ID NO: 352	ATGGAAGATATAAAGGATTCTAAGGTGAAGAGATTTTG CTCCAAAAATATTCTGATCATCCTTGGTTTCACCTCTATC TTGGCTGTGATAGCTTTGATTGCTGTGGGACTGACCCAG AACAAACCTTTGCCAGAAAATGTTAAGTATGGGATTGT GTTGGATGCGGGGTCATCTCACACCAACCTGTACATCTA CAAGTGGCCGGCCGAGAAGGAGAATGACACAGGGGTG GTGCAGCAGTTAGAGGAATGCCAAGTGAAAGGTCCTGG AATCTCAAAATATGCTCAGAAAACAGATGAAATCGGTG CGTACCTGGCCGAATGCATGGAACTGTCCACCGAACTG ATACCAACATCCAAGCATCACCAGACTCCTGTCTACCTG

	GGAGCCACAGCAGGCATGCGCTTGCTTAGAATGGAAAG CGAACAATCGGCAGACGAGGTCCTGGCTGCAGTGTCAA CAAGCCTTAAGAGCTACCCCTTTGACTTCCAGGGTGCCA AGATCATCACTGGACAAGAGGAAGGTGCCTATGGGTGG ATTACTATTAACTATCTGCTGGGCAGATTCACTCAGGAA CAGAGTTGGCTAAGCCTCATCTCAGACAGTCAGAAACA GGAAACCTTTGGCGCTTTGGATCTCGGCGGAGCCTCCAC ACAGATCACCTTCGTGCCCCAAAACAGCACTATAGAGT CCCCAGAAAACTCTCTGCAATTCCGTCTCTATGGCGAGG ACTATACTGTGTACACACACAGCTTCCTGTGCTATGGGA AGGATCAGGCTCTCTGGCAGAAACTGGCCAAGGACATT CAGGTTTCAAGTGGTGGCGTCCTTAAGGACCCATGCTTT AACCCAGGATACGAGAAGGTTGTGAATGTAAGTGAGCT CTATGGCACTCCCTGCACCAAAAGATTCGAAAAGAAGC TACCATTTGATCAGTTTCGAATCCAGGGCACTGGAGACT ACGAACAGTGCCACCAGAGCATCCTTGAGCTCTTCAAC AACAGCCACTGCCCTTACTCCCAGTGTGCCTTCAATGGC GTCTTCCTGCCACCTCTCCATGGGAGTTTTGGGGCGTTTT CTGCTTTCTACTTTGTGATGGATTTTTTTAAGAAGGTAGC GAAAAACAGTGTCATCTCTCAGGAGAAAATGACCGAGA TAACAAAAAATTTTTGCTCAAAATCTTGGGAAGAGACA AAGACATCTTATCCTTCAGTAAAGGAGAAGTACCTGAG TGAGTACTGCTTCTCGGGCGCCTACATCCTCTCTCTCCTG CAAGGCTATAACTTCACAGACAGCTCCTGGGAACAGAT TCATTTTATGGGCAAGATCAAAGACAGCAACGCGGGGT GGACTTTGGGCTACATGCTGAACTTGACCAACATGATCC CAGCTGAACAGCCGTTGTCCCCGCCTCTCCCTCACTCCA CCTACATCGGCCTCATGGTTCTCTTCTCCCTGCTCTTGGT TGCTGTGGCCATCACAGGCCTGTTCATCTATAGCAAGCC TTCATATTTCTGGAAAGAGGCAGTA

Экспрессия и очистка рекомбинантных ENTPD1 мыши и ENTPD2 мыши и крысы из культур HEK

Рекомбинантные мономерные ENTPD2 мыши или крысы, а также ENTPD1 мыши получали следующим образом. Клетки FreeStyle™ 293-F (Thermo Fisher Scientific) культивировали в среде для экспрессии Gibco™ FreeStyle™ 293 и транзиентно

трансфицировали плазмидой, содержащей промотор CMV, сигнальный пептид IgK мыши, остатки 29-462 (внеклеточный домен) ENTPD2 мыши или крысы или остатки 38-478 ENTPD1 мыши и полигистидиновую (His_6) метку (SEQ ID NO: 1010). Через четыре дня после трансфекции клетки из культуры объемом 1 л осаждали при 2600 × g в течение 10 минут, и надосадочную жидкость осветляли путем фильтрации через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Надосадочную жидкость дополняли с помощью 20 мМ Трис-HCl, pH 8,0, и 20 мМ имидазола и загружали в колонку, предварительно упакованную с помощью 6 мл агарозы Ni-NTA (Qiagen). Колонку промывали 10 объемами колонки промывочного буфера [20 мМ Трис (pH 8,0), 150 мМ NaCl, 20 мМ имидазола] и элюировали 5 объемами колонки элюирующего буфера [20 мМ Трис (pH 8,0), 150 мМ NaCl, 250 мМ имидазола]. Белок подвергали замене буфера на TBS, pH 7,4, с использованием колонки для обессоливания PD-10 (GE Healthcare) и замораживали для хранения.

Экспрессия и очистка ENTPD1 человека и ENTPD2 человека и макака-крабоеда из клеток насекомых

Бакуловирусную систему экспрессии Bac-to-Bac® (Thermo Fisher Scientific) использовали для экспрессии рекомбинантных белков ENTPD1 человека и ENTPD2 человека и макака-крабоеда. Остатки 38-478 ENTPD1 человека или остатки 29-462 ENTPD2 человека или макака-крабоеда клонировали в вектор экспрессии pFastBac™1 (Thermo Fisher Scientific) с сигнальным пептидом GP67 и С-концевой меткой Avi-His_6 (SEQ ID NO: 1010). Клонированные векторы вводили путем трансформации в компетентные клетки DH10Bac™ Escherichia coli (Thermo Fisher Scientific) с получением рекомбинантных бакмид. Рекомбинантные бакмиды затем экстрагировали с помощью набора PureLink® HiPure Plasmid Miniprep (Thermo Fisher Scientific) и вводили путем трансфекции в клетки Sf9 (Spodoptera frugiperda) с помощью FuGene® HD (Promega) с получением рекомбинантного бакуловируса (BV). После одного цикла амплификации полученный в результате BV использовали для инфицирования клеток High Five™ (Trichoplusia ni) (Thermo Fisher Scientific) в 1 л суспензионной культуры при плотности 2 × 10^6 клеток/мл и при множественности инфицирования (MOI), составляющей 10. Через 72 ч. после инфицирования клетки осаждали путем центрифугирования при 2600 × g в течение 10 мин., и собирали среду, содержащую секретированный гликозилированный рекомбинантный белок. Надосадочную жидкость затем дополняли с помощью 50 мМ Трис, pH 8,0, 1 мМ $NiCl_2$, 5 мМ $CaCl_2$, а затем центрифугировали при 2600 × g в течение 30 мин. Надосадочную жидкость подвергали фильтрации через фильтр с размером пор 0,22 мкм и загружали в колонку, упакованную с помощью 6 мл агарозы Ni-NTA (Qiagen). Колонку промывали 10 объемами колонки промывочного буфера, описанного выше, и элюировали элюирующим буфером (также описанным выше). Белок подвергали замене буфера на TBS (20 мМ Трис, pH 7,4, 150 мМ NaCl) с использованием колонки для обессоливания PD-10 (GE Healthcare) и замораживали для хранения.

Получение линий клеток, стабильно экспрессирующих ENTPD1 или ENTPD2

Стабильные линии клеток, экспрессирующих ENTPD1 или ENTPD2, получали с

помощью ретровирусной трансдукции. Для получения ретровируса клетки 293T совместно трансфицировали ретровирусным вектором экспрессии, экспрессирующим ENTPD1 или ENTPD2, и пакующим вектором pCL-Eco или pCL-10A1 (Novus Biologicals, № по кат. NBP2-29540 или NBP2-2952) с использованием реагента для трансфекции FuGene® 6 (Promega, № по кат. E2692) согласно рекомендациям производителя. Клетки поддерживали в инкубаторе с увлажнением при 37°C и 5% CO_2, и образцы надосадочной жидкости культуры клеток, содержащие вирус, собирали через 48 часов после трансфекции. Клетки NIH/3T3 и 300.19 (ATCC®) выращивали до почти полной конфлюэнтности в 6-луночном планшете. Среду для выращивания удаляли от клеток, и добавляли надосадочную жидкость, содержащую вирус, в присутствии 8 мкг/мл полибрена (конечная концентрация) (EMD Millipore, № по кат. TR-1003-G). После инкубирования в течение 3-6 часов при 37°C добавляли свежую среду. Затем клетки культивировали в соответствующих условиях отбора с получением стабильных линий клеток, экспрессирующих ENTPD1 или ENTPD2.

Получение, экспрессия и очистка вирусоподобных частиц (VLP)

Клетки 300.19 поддерживали в DMEM с 10% FBS. Для получения VLP клетки подвергали замене среды на DMEM с 4% FBS, затем совместно трансфицировали плазмидой для экспрессии ENTPD2 человека и плазмидой для экспрессии ретровирусного Gag при соотношении 3:2 в мкг. Через сорок восемь часов после трансфекции надосадочную жидкость культуры клеток собирали и осветляли путем центрифугирования при 2500 × g в течение 5 мин. в настольной центрифуге и выдерживали на льду. VLP очищали путем ультрацентрифугирования при 100000 × g через 20% сахарозную подушку в центрифужных пробирках Ultra-Clear™ объемом 38,5 мл (Beckman Coulter®, № по каталогу 344058) на роторе Beckman Coulter® SW 32 Ti в ультрацентрифуге Sorvall™ RC 6 Plus. Полученные осадки ресуспендировали в 300 мкл холодного стерильного PBS и подвергали количественной оценке с помощью анализа с BCA Pierce (Thermo Fisher Scientific, № по каталогу 23225).

Получение гибридом

Мышей, трансгенных по Bcl-2 (линии C57BL/6-Tgn(bcl-2)22WEHI), иммунизировали антигеном с помощью процедуры, называемой "повторной иммунизацией в нескольких участках" (RIMMS) (K.E. Kilpatrick et al. Hybridoma 1997). Вкратце, мышам инъецировали 22,5 мкг His_6-меченного ECD 29-462 белка ENTPD2 человека ("His6" раскрыт под SEQ ID NO: 1010) в 8 конкретных участков вблизи периферических лимфатических узлов (PLN). Данную процедуру повторяли 8 раз в течение 20-дневного периода. В день 18 собирали тестируемые образцы крови, и титр сывороточных антител анализировали с помощью FACS и ELISA. В некоторых случаях мышей BALB/c иммунизировали с помощью 50 мкг His_6-меченного ECD 29-462 белка ENTPD2 человека ("His6" раскрыт под SEQ ID NO: 1010) в полном адъюванте Фрейнда от Sigma Adjuvant System® или неполном адъюванте Фрейнда, 50 мкг VLP, экспрессирующих ENTPD2 человека, в PBS или 5 × 10e6 клеток 300.19, стабильно

сверхэкспрессирующих ENTPD2 человека (SEQ ID NO: 291), в PBS. Животным дважды делали подкожную или внутрибрюшинную инъекцию с интервалом в две недели с последующей внутривенной бустерной инъекцией примерно две недели спустя, вводя им 50 мкг VLP, экспрессирующих ENTPD2 человека, или His_6-меченного ECD 29-462 белка ENTPD2 человека в PBS ("His6" раскрыт под SEQ ID NO: 1010). Через десять дней после второй иммунизации собирали тестируемые образцы крови, и титр сывороточных антител анализировали с помощью FACS и ELISA. У мышей с высоким титром удаляли селезенки и объединенные периферические лимфатические узлы (PLN). Для сбора лимфоцитов селезенки и PLN промывали один раз с помощью PBS, а затем диссоциировали путем пропускания через сито с размером ячеек 70 микрон (Falcon, № 352350). Полученные лимфоциты промывали еще 2 раза перед проведением слияния в среде Cytofusion® (среда для электропорации BTXpress Cytofusion®, № по кат. 47001).

Для проведения слияния клетки миеломы F0 смешивали с лимфоцитами в соотношении 1:4. Смесь клеток центрифугировали, суспендировали в среде Cytofusion® и затем вносили в камеру для электрослияния (камера с коаксиальными электродами 9ML от Harvard Apparatus, № 470020). Электрослияние осуществляли в соответствии с инструкциями производителя с использованием системы для получения гибридом Hybrimune CEEF-50B (Cyto Pulse Sciences, Inc). Слитым клеткам предоставляли возможность восстановления в течение 5 минут в камере, их разбавляли 1:10 в среде без гипоксантина, аминоптерина и тимидина (HAT) [DMEM+20% FBS, 1% смесь пенициллин/стрептомицин/глутамин (PSG), 1X заменимые аминокислоты (NEAA), 0,5X добавка для слияния и клонирования гибридом (Roche; HFCS)] и оставляли при 37°C и 5% CO_2 на один час. Затем добавляли 4X среду HAT (DMEM+20% FBS, 1% PSG, 1X NEAA, 4X HAT, 0,5X HFCS) для доведения концентрации HAT до 1X, и плотность корректировали, доводя до 66000 клеток/мл. Клетки высевали в 384-луночные планшеты из расчета 60 мкл/лунка.

FACS-*скрининг*

Через десять дней после слияния планшеты с гибридомами подвергали скринингу на наличие ENTPD2-специфичных антител с помощью проточной цитометрии для подтверждения специфичного связывания антител-кандидатов с ENTPD2 человека, экспрессирующимся на клеточной поверхности, с использованием трех линий клеток: исходных клеток NIH/3T3, клеток NIH/3T3, стабильно сверхэкспрессирующих ENTPD2 человека, и клеток RKO (ATCC®), которые экспрессируют эндогенный ENTPD2 человека. Клетки тщательно ополаскивали с помощью PBS, обрабатывали аккутазой (Millipore, № SCR005) для отделения их от планшетов для выращивания и ресуспендировали в холодном PBS. Клетки биотинилировали и метили флуоресцентным красителем согласно инструкциям производителя (набор для биотинилирования белков клеточной поверхности FluoReporter™, Thermo Fisher Scientific, № по кат. F-20650; PE-Cy7-стрептавидин, ThermoFisher Scientific, № по кат. SA1012). Клетки ресуспендировали из расчета примерно 1×10^6 клеток/мл в буфере для FACS (PBS с 2% FBS+0,1% NaN_3). В 384-луночный

планшет предварительно вносили 20 мкл надосадочной жидкости гибридомы и добавляли 20 мкл суспензии клеток. Клетки инкубировали в течение 1 часа при 4°C, дважды промывали с помощью холодного буфера для FACS и ресуспендировали в 20 мкл буфера для FACS, содержащего вторичное антитело в разведении 1:400 (Fcγ-специфичный F(ab')2 антитела козы к IgG мыши, конъюгированный с аллофикоцианином; Jackson ImmunoResearch, № по кат. 115-136-071). После дополнительного инкубирования в течение 45 мин. при 4°C клетки дважды промывали с помощью буфера для FACS и ресуспендировали в 20 мкл буфера для FACS с 2 мкг/мл йодида пропидия (Sigma Aldrich, № по кат. P4864). Среднее геометрическое значение интенсивности флуоресценции рассчитывали в отдельных живых клетках с помощью программного обеспечения FlowJo™.

Хиты из этого первичного проточно-цитометрического скрининга с использованием клеток подтверждали при вторичном проточно-цитометрическом скрининге. Гибридомы, экспрессирующие антитела, которые связывались как с клетками NIH/3T3-hENTPD2, так и с клетками RKO, размножали до получения 45 мл культур, продуцирующих белок, в бессывороточной среде для культивирования гибридом с добавкой для среды HT (50×) Hybri-Max™ (Sigma, № по кат. H0137) в колбах CellStar® Autoflask™ (Greiner Bio-One). Культуры поддерживали во встряхивателе-инкубаторе при 37°C и 5% CO2 в течение примерно 8 дней, а затем клетки осаждали, и образцы надосадочной жидкости отбирали посредством очистки на смоле с белком G. Белки затем подвергали замене буфера на PBS с использованием колонок NAP-10™ (GE Healthcare).

Получение рекомбинантных антител

mAb, полученные из гибридом, подвергали скринингу в клеточном анализе на ингибирование гидролиза ATP под действием ENTPD2. В этом анализе идентифицировали два лидерных ингибирующих mAb: mAb17 и mAb16.

Получали химерные антитела, состоящие из мышиных вариабельных областей и человеческих константных областей. Из гибридом получали последовательности ДНК вариабельных областей (VH и VL) для клонирования и оптимизации антител (гуманизации, удаления потенциальных посттрансляционных модификаций и т. д.). ДНК вариабельной области из мышиных моноклональных антител амплифицировали с помощью 5'-RACE из РНК, полученной из каждой отобранной гибридомной линии клеток, с применением стандартных способов. Полипептидные последовательности каждой из мышиных вариабельных областей тяжелой/легкой цепи показаны в таблице 1 для mAb17 и mAb16 соответственно. Соответствующие нуклеотидные последовательности вариабельных областей тяжелой/легкой цепей для каждой из гибридом показаны под SEQ ID NO: 234/SEQ ID NO: 238 и SEQ ID NO: 226/SEQ ID NO: 230. Для получения химерных антител последовательности ДНК, кодирующие VL и VH из гибридомы, амплифицированные с помощью 5'-RACE-PCR, клонировали в векторы экспрессии, содержащие соответствующие последовательности константных областей человеческой тяжелой цепи дикого типа и человеческой легкой цепи (IgG1, каппа-цепь).

Эти векторы выделяли в минимальном количестве с помощью набора QIAprep Spin Miniprep (QIAGEN, № по кат. 27106) и вводили путем нуклеофекции в фирменную линию клеток CHO с помощью Amaxa™ 4D-Nucleofector™ (Lonza). Трансфицированные клетки помещали в селективную среду для получения стабильных пулов, и полученные в результате пулы подвергали 14-дневному процессу получения белка с периодической подпиткой. Образцы надосадочной жидкости культуры клеток, содержащие белок, осветляли путем центрифугирования при 3000 × g в течение 15 минут и фильтрации через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Белки очищали с помощью смолы MabSelect SuRe™ (GE Healthcare) на очистительном устройстве ÄKTA™ Pure или ÄKTA™ и элюировали с помощью элюирующего буфера для IgG Pierce™ (Thermo Fisher Scientific, № 21004), затем подвергали замене буфера на PBS путем диализа или с использованием колонки для обессоливания HiPrep (GE Healthcare). В случаях, когда полученный в результате белок был на < 95% димерным согласно данным аналитической эксклюзионной хроматографии (AnSEC) с использованием Superdex® 200 Increase, белок подвергали препаративной SEC с использованием колонки HiLoad® Superdex® 200 (GE Healthcare) с использованием PBS в качестве подвижной фазы.

Гуманизация

Конструкции вариабельных областей также разрабатывали для гуманизации и оптимизации последовательностей (например, удаления потенциальных сайтов посттрансляционных модификаций) с помощью программы из системы программного обеспечения для внутреннего пользования. Для каждой мышиной VH и VL были выбраны одна или несколько человеческих каркасных областей с обратными мутациями в "верньерных" зонах (Foote and Winter 1992, Journal of Molecular Biology; 224 (2):487-499) для поддержания аффинности и необходимой функциональной активности. Как mAb17, так и mAb16 также гуманизировали с использованием разработки на основе трехмерной кристаллической структуры. Вкратце, кристаллическую структуру загружали в Molecular Operating Environment (MOE™) (Chemical Computing Group ULC) и получали с помощью стандартной методики получения структур с использованием силового поля Amber10EHT. Fab затем сравнивали по структуре с библиотекой гуманизированных Fab собственной разработки с помощью специально созданного скрипта под названием "cdr_grafter SVL". Скрипт сравнивает по структуре вводимую структуру мышиного Fab со структурами человеческих Fab в базе данных для внутреннего пользования и выводит перечень детализированных параметров, касающихся структурных сходств между мышиными (донорными) и человеческими (акцепторными) Fab. Эти параметры включают сравнение величин RMSD для каркасных и "стволовых" областей и длины для CDR. На основании этих параметров были отобраны четыре акцепторных Fab-кандидата для прививания донорных CDR из mAb17 и были отобраны три акцепторных Fab-кандидата для прививания донорных CDR из mAb16. Гуманизация mAb17 приводила к получению mAb1, mAb2, mAb3 и mAb7. Гуманизация и оптимизация mAb16 приводила к получению mAb4, mAb5 и mAb6.

Последовательности ДНК, кодирующие разработанные гуманизированные домены VL и VH в обеих стратегиях гуманизации, заказывали в GeneArt (Life Technologies Inc., Регенсбург, Германия) с оптимизацией кодонов для Cricetulus griseus. Эти вариабельные области субклонировали в векторы экспрессии, содержащие соответствующие последовательности константных областей человеческой тяжелой цепи дикого типа и человеческой легкой цепи (IgG1, каппа-цепь), с применением стандартных способов.

Рекомбинантные антитела получали посредством введения векторов, кодирующих тяжелую и легкую цепи, в клетки FreeStyle™ 293-F (Thermo Fisher Scientific) путем совместной трансфекции. Трансфицированные клетки поддерживали в среде для экспрессии Gibco® FreeStyle™ 293 (Thermo Fisher Scientific, № 12338018) в колбах CellStar® Autoflask™ (Greiner Bio-One), помещенных во встряхиватель-инкубатор, при 37°C и 5% CO_2 в течение примерно 5 дней, и затем клетки осаждали, а образцы надосадочной жидкости, содержащие белок, отбирали посредством очистки на смоле MabSelect SuRe™ (GE Healthcare). Белки затем подвергали замене буфера на PBS с использованием колонок NAP-10™ (GE Healthcare).

Пример 3. Получение человеческих антител к ENTPD2 человека и их Fab-фрагментов с помощью фагового дисплея

Fab, которые специфично связываются с ENTPD2 человека (SEQ ID NO: 291), получали с помощью технологии фагового дисплея HuCAL PLATINUM® от MorphoSys. Фагмидная библиотека основана на концепции HuCAL® (Knappik et al., 2000, J Mol Biol 296, 57-86), и в ней используется технология CysDisplayTM для отображения Fab на поверхности фага (Lohning, WO 2001/05950).

Проводили четыре типа пэннинга: твердофазный пэннинг против непосредственно нанесенного в качестве покрытия рекомбинантного ENTPD2 человека (hENTPD2), пэннинг в растворе против ENTPD2, пэннинг с использованием цельных клеток и пэннинг для созревания аффинности.

Пэннинг с использованием гранул

Перед пэннингом с использованием гранул антиген иммобилизировали на магнитных гранулах, покрытых карбоновой кислотой (Dynabeads™ M-270 с карбоновой кислотой, Thermo Fisher Scientific, № по кат. 14306D). 1×10^7 гранул, покрытых антигеном, на пул фагов блокировали с помощью 1x ChemiBlocker (EMD Millipore). Параллельно с этим соответствующее количество антител на фаге блокировали с помощью 50% человеческой сыворотки крови/0,33x ChemiBlocker/0,05% Tween 20. Для предотвращения отбора фага, связывающегося с гранулами, блокированные фаговые частицы предварительно инкубировали с использованием гранул с иммобилизованным нерелевантным белком. Блокированные гранулы, покрытые антигеном, добавляли к предварительно адсорбированным и блокированным фаговым частицам, и антителам на фаге предоставляли возможность связывания с гранулами, покрытыми антигеном. Фаговые частицы, связавшиеся с гранулами, покрытыми антигеном, собирали путем магнитной сепарации. Несколько стадий промывания обеспечивали удаление

неспецифично связавшегося фага. Наконец, специфично связавшийся фаг элюировали с гранул, покрытых антигеном. Элюат переносили в 14 мл культуры E. coli TG1 и инкубировали для инфицирования фагом.

После центрифугирования инфицированные бактерии осаждали и ресуспендировали в 2x среде YT, высевали на чашки с агаром LB/хлорамфениколом и инкубировали в течение ночи. Колонии соскабливали с чашек и использовали для "спасения" фага, поликлональной амплификации отобранных клонов и получения фага. При наличии очищенного фага начинали следующий цикл пэннинга. Второй и третий циклы твердофазного пэннинга проводили с использованием того же протокола, что и для первого цикла, за исключением того, что использовали меньшее количество антигена и более жесткие условия промывания.

Пэннинг в растворе

Блокировали подходящее количество гранул со стрептавидином (Dynabeads™ M-280 со стрептавидином, Thermo Fisher Scientific, № по кат. 11206D). Параллельно с этим блокировали подходящее количество антител на фаге. Для удаления фага, связывающегося со стрептавидином или гранулами, проводили предварительную адсорбцию блокированных фаговых частиц с использованием блокированных гранул со стрептавидином, покрытых нерелевантным биотинилированным белком. Затем биотинилированный ENTPD2 добавляли к предварительно адсорбированным и блокированным фаговым частицам, и антителам на фаге предоставляли возможность связывания с антигеном в растворе. Комплексы фаг-антиген захватывали с помощью блокированных гранул со стрептавидином, и фаговые частицы, связавшиеся с гранулами со стрептавидином, собирали с помощью магнитного сепаратора. Неспецифично связавшийся фаг смывали с помощью нескольких стадий промывания. Специфично связавшийся фаг элюировали с гранул со стрептавидином. Элюат переносили в 14 мл культуры E. coli TG1 и инкубировали для инфицирования фагом. Последующее инфицирование фагом и получение фага проводили в соответствии с протоколом пэннинга с использованием гранул, и начинали следующий цикл пэннинга. Второй и третий циклы пэннинга с использованием гранул в растворе проводили с использованием того же протокола, что и для первого цикла пэннинга, за исключением того, что применяли условия промывания повышенной жесткости.

Пэннинг с использованием цельных клеток

Для каждой процедуры пэннинга блокировали подходящее количество антител на фаге. Параллельно с этим для каждого пула фагов блокировали подходящее количество клеток-мишеней, экспрессирующих ENTPD2, и подходящее количество адсорбированных клеток без экспрессии антигена ENTPD2. Блокированные клетки-мишени осаждали путем центрифугирования, ресуспендировали в растворе предварительно блокированных фаговых частиц, и антителам на фаге предоставляли возможность связывания с антигеном, представленным на клетке. Комплексы фаг-клетка промывали несколько раз. Специфично связавшийся фаг элюировали с клеток-мишеней. После центрифугирования

надосадочную жидкость (элюат) наносили на антиген-отрицательные адсорбированные клетки для удаления фага, связывающегося с молекулами клеточной поверхности, отличными от антигена-мишени (после адсорбции). Конечную надосадочную жидкость переносили в культуру E. coli TG1 для инфицирования фагом. Второй и третий цикл пэннинга с использованием цельных клеток проводили с использованием того же протокола, что и для первого цикла пэннинга.

Пэннинг для созревания аффинности

Создание библиотек для созревания аффинности HuCAL PLATINUM®

Для созревания аффинности были отобраны четыре Fab-кандидата. Для увеличения аффинности и биологической активности отобранных антител области CDR-L3 и CDR-H2 оптимизировали путем кассетного мутагенеза с применением тринуклеотид-направленного мутагенеза, оставляя при этом неизменными каркасные области (Virnekäs et al. 1994, Nucleic Acids Research 22 (25), pp. 5600-5607). Для оптимизации CDR-L3 фрагмент ДНК размером ~ 400 п. о., кодирующий CDR-L3, каркасную область 4, а также константную область легкой цепи, удаляли из последовательности, кодирующей исходные антитела, путем рестрикционного расщепления и заменяли репертуаром фрагментов ДНК, кодирующих диверсифицированные области CDR-L3 вместе с каркасной областью 4 и константным доменом. Во втором библиотечном наборе была диверсифицирована последовательность, кодирующая CDR-H2, при этом соединительные каркасные области оставались неизменными. С целью снижения влияния генетического окружения исходной недиверсифицированной последовательности фрагмент ДНК размером ~ 150 п. о., содержащий исходные последовательности CDR-H2 и каркасной области 3, заменяли имитационной последовательностью размером ~ 590 п. о. посредством рестрикционного расщепления и лигирования перед тем, как диверсифицированную кассету CDR-H2 (включая каркасную область 3) вставляли также посредством рестрикционного расщепления и лигирования. Электропорацию смесей для лигирования проводили в клетках MC1061F′ с получением примерно 10^8-10^9 в $> 5 \times 10^6$ независимых колоний. Амплификацию библиотеки проводили, как описано ранее (Rauchenberger et al. 2003, J Biol Chem 278 (40), pp. 38194-38205). Для контроля качества примерно 10-20 отдельных клонов на библиотеку произвольным образом отбирали и секвенировали.

Для отбора кандидатов с улучшенной аффинностью фаги, полученные из библиотек для созревания аффинности, подвергали двум-трем циклам пэннинга для созревания аффинности. Жесткость пэннинга повышали путем снижения концентрации антигена в каждом цикле пэннинга (Low et al. 1996, J.Mol.Biol. 260, pp. 359-368). В дополнение к снижению количества антигена проводили отбор по скорости диссоциации (Hawkins et al. 1992, J.Mol.Biol. 226 (3), pp. 889-896). Эти стратегии использовали в комбинации с длительными стадиями промывания.

Экспрессия

Субклонирование из дисплейного вектора в вектор для экспрессии Fab у E. coli

Для обеспечения быстрой экспрессии растворимого Fab вставки, кодирующие Fab, в отобранном фаге HuCAL PLATINUM® субклонировали из дисплейного вектора pMORPH®30 в вектор экспрессии pMORPH®x11, представляющий собой pMORPH®x11_FH. После трансформации E. coli TG1 F- экспрессию отдельных клонов и получение периплазматических экстрактов, содержащих Fab-фрагменты HuCAL®, проводили, как описано ранее (Rauchenberger et al., 2003, J Biol Chem 278: 38194-38205).

Микромасштабное получение His-меченных Fab-фрагментов

Экспрессию Fab-фрагментов, кодируемых бактериальным вектором экспрессии, в клетках E. coli TG1 F- осуществляли в пробирках Falcon объемом 50 мл с использованием 25 мл 2x среды YT, дополненной 0,1% глюкозой, 34 мкг/мл хлорамфеникола и 1 мМ IPTG (изопропил-ß-D-тиогалактопиранозида). Культуры встряхивали при 30°C в течение 18 ч. Клетки собирали и разрушали с помощью комбинации лизоцима и реагента для экстракции белков BugBuster® (Merck, Германия). His6-меченные Fab-фрагменты ("His6" раскрыт под SEQ ID NO: 1010) выделяли посредством IMAC (GE Healthcare, Германия) и элюировали с помощью имидазола. Замену буфера на 1X PBS Дульбекко (pH 7,2) проводили с использованием планшетов "PD MultiTrap™ G-25" (GE Healthcare, Германия). Концентрации белков определяли с помощью UV-спектрофотометрии. Чистоту иллюстративных отобранных образцов анализировали в 15% геле для SDS-PAGE в денатурирующих невосстанавливающих условиях.

***Субклонирование в вектор для экспрессии IgG и FabCys и экспрессия в клетках* HKB11**

Для экспрессии полноразмерного IgG в клетках HKB11 отобранные кандидаты или пулы кандидатов клонировали в вектор pMORPH®4_IgG1f. Субклонирование проводили в качестве двухстадийного способа для удобного и эффективного преобразования большого количества клонов Fab с уникальными последовательностями в формат IgG.

Эукариотические клетки HKB11 трансфицировали ДНК-вектором экспрессии в клетках млекопитающих, кодирующим как тяжелую, так и легкую цепи IgG. Образцы надосадочной жидкости культуры клеток собирали в день 3 или 6 после трансфекции и подвергали стандартной аффинной хроматографии с белком A (MabSelect™ SuRe™, GE Healthcare). Если не указано иное, проводили замену буфера на 1x PBS Дульбекко (pH 7,2, Invitrogen), и образцы подвергали стерилизующей фильтрации (размер пор 0,2 мкм).

Концентрации белков определяли с помощью UV-спектрофотометрии, и показатели чистоты IgG анализировали в денатурирующих, восстанавливающих и невосстанавливающих условиях с использованием CE-SDS (LabChip GXII, Perkin Elmer, США). Для анализа препаратов IgG в нативном состоянии проводили HP-SEC.

Сводные данные об антителах

В таблице 1 представлена информация о последовательностях антител к ENTPD2 человека, полученных из мышиных гибридом и фагового дисплея.

Пример 4. Определение биохимических характеристик антител к ENTPD2 человека

Антитела к ENTPD2 человека оценивали в следующих анализах.

FACS-скрининг. Специфичное связывание антител-кандидатов с эндогенно экспрессирующимся ENTPD2 оценивали с помощью проточной цитометрии. Клетки тщательно ополаскивали с помощью 1x PBS и обрабатывали аккутазой (Millipore, № SCR005) для отделения от планшетов для выращивания и ресуспендировали из расчета примерно 1×10^5 клеток/90 мкл в 1x буфере для FACS (2% FBS+0,1% NaN3 в PBS). В 96-луночный планшет с U-образным дном предварительно вносили 10 мкл 10x раствора антитела в буфере для FACS и добавляли 90 мкл суспензии клеток. Клетки инкубировали в течение 30 минут при 4°C, промывали 1x с помощью холодного PBS и ресуспендировали в 100 мкл вторичного антитела, разведенного 1:500 в 1x буфере для FACS (Fcγ-специфичный F(ab')2 антитела козы к IgG человека, конъюгированный с аллофикоцианином; Jackson ImmunoResearch, № по кат. 109-136-098). После дополнительного инкубирования в течение 15 мин. при 4°C клетки дважды промывали с помощью PBS и ресуспендировали в 100 мкл 1x буфера для FACS с 4 мкг/мл йодида пропидия (Life Technologies, № по кат. P3566). Среднее геометрическое значение интенсивности флуоресценции рассчитывали в отдельных живых клетках с помощью программного обеспечения FlowJo.

ELISA-скрининг на антигене, непосредственно нанесенном в качестве покрытия. 384-луночные планшеты MaxiSorp™ (Thermo Nunc) покрывали с помощью 2 мкг/мл рекомбинантного ENTPD2, разведенного в PBS. После блокирования с помощью 2% BSA (бычьего сывороточного альбумина) в PBS в течение 1 ч. при комнатной температуре, 3-кратного промывания планшетов с помощью TBST (0,05% Tween 20 в TBS, Sigma, № по кат. T9039) добавляли первичные антитела в TBST и 2% BSA в серийном разведении и инкубировали в течение 1 ч. при комнатной температуре. Планшеты промывали вновь, и связавшиеся антитела выявляли путем инкубирования с антителом к hFc-гамма, конъюгированным с пероксидазой хрена (HRP; Jackson ImmunoResearch, № по кат. 115-035-098, в разведении 1:5000 в 1x TBST+2% BSA), в течение 1 ч. при комнатной температуре с последующим промыванием с помощью TBST и добавлением после этого субстрата пероксидазы SureBlue (KPL, № 52-00-03). Спустя 15 мин регистрировали поглощение при 650 нм и анализировали в GraphPad Prism6.

Скрининг на Biacore. Аффинность измеряли путем определения кинетических констант скоростей с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR) на приборе Biacore T200 или T100 с комплектом для повышения чувствительности T200 (Biacore, GE Healthcare). Антитела захватывали на сенсорных чипах CM5 (Biacore, GE Healthcare), полученных с использованием антитела мыши к Fc-домену IgG человека (ThermoFisher, № по каталогу 05-4200), связанного с поверхностью посредством аминогруппы. Связывание с ECD ENTPD2 человека и макака-крабоеда (Cyno) при 25°C выявляли при концентрациях в диапазоне от 0,78 нМ до 500 нМ в зависимости от аффинности антитела. Аналитам ENTPD2 предоставляли возможность ассоциации в течение 180 с и диссоциации в течение не более 1800 с в зависимости от скорости диссоциации антитела при скорости потока 30 мкл/мин. Подвижный буфер представлял собой PBS, pH 7,2 (полученный из 10X

исходного раствора Corning, № по кат. 46-013-CM) + 0,05% Tween 20. Регенерацию осуществляли посредством 30-секундных операций введения 3 M или 4 M MgCl2 для полного удаления захваченного антитела и оставшегося комплекса с поверхности, после чего захватывали новое антитело. Необработанные данные анализировали с помощью программного обеспечения для оценки Biacore T200 версии 1.0 и аппроксимировали моделью связывания 1:1, при этом все параметры были установлены для глобальной аппроксимации, за исключением RI, который был установлен для локальной аппроксимации.

Для mAb1 - mAb10 подтверждали специфичность антитела. Все клоны демонстрировали значительное связывание с ENTPD2 человека в диапазоне от наномолярного до субнаномолярного. Антитела mAb8, mAb9 и mAb10 демонстрировали слабую аффинность в отношении ENTPD2 мыши. Ни одно из отобранных антител не связывается с ENTPD2 крысы. См. таблицу 21 и таблицу 22.

Таблица 21. Константы диссоциации (K_D) для отдельных антител к ENTPD2 человека

	ENTPD2 человека			ENTPD2 макака-крабоеда			ENTPD2 мыши
	BIACore, K_D (нМ)	k_a (1/М· с)	k_d (1/с)	BIACore, K_D (нМ)	k_a (1/М· с)	k_d (1/с)	BIACore, K_D (нМ)
MAB1	1,7	1,1E+05	1,9E-04	3,4	3,6E+05	1,2E-03	Отсутствие связывания
MAB2	1,7	1,1E+05	1,8E-04	2,8	4,3E+05	1,2E-03	Отсутствие связывания
MAB3	1,3	1,3E+05	1,6E-04	2,2	4,5E+05	9,8E-04	Отсутствие связывания
MAB4	0,7	3,0E+05	2,2E-04	42,1	1,4E+05	5,7E-03	Отсутствие связывания
MAB5	0,6	2,7E+05	1,6E-04	10,7	2,9E+05	3,0E-03	Отсутствие связывания
MAB6	0,7	3,5E+05	2,6E-04	35,6	2,9E+05	1,0E-02	Отсутствие связывания
MAB7	0,9	2,1E+05	1,9E-04	1,1	1,2E+06	1,2E-03	Отсутствие связывания
MAB8	3,3	2,9E+05	9,4E-04	81,1	3,0E+05	2,4E-02	Слабое связывание
MAB9	0,9	3,8E+05	3,0E-04	20,9	9,9E+05	2,1E-02	750

MAB10	0,8	3,4E+05	2,4E-04	15,2	1,2E+06	1,8E-02	Слабое связывание

Таблица 22. Связывание отдельных антител к ENTPD2 человека с клетками, экспрессирующими ENTPD2

	Кажущаяся аффинность, определенная с помощью FACS; EC50 (нМ)		
Антитело	NIH3T3, ENTPD2 человека	NIH3T3, ENTPD2 макака-крабоеда	RKO
Антитело MAB1 к ENTPD2 человека	1,5	3,3	0,9
Антитело MAB2 к ENTPD2 человека	2,1	4,2	1,3
Антитело MAB3 к ENTPD2 человека	2,8	5,4	2,1
Антитело MAB4 к ENTPD2 человека	0,9	6,1	0,5
Антитело MAB5 к ENTPD2 человека	0,9	5,2	0,4
Антитело MAB6 к ENTPD2 человека	0,9	7,0	0,4
Антитело MAB7 к ENTPD2 человека	0,5	0,8	0,4
Антитело MAB8 к ENTPD2 человека	0,6	2,1	0,3
Антитело MAB9 к ENTPD2 человека	0,6	1,3	0,5
Антитело MAB10 к ENTPD2 человека	0,8	1,7	0,6

Перекрестная реактивность. Клетки NIH/3T3, экспрессирующие ENTPD1 человека (NP_001767), получали с использованием подхода ретровирусной трансдукции. Через 72 ч. после трансдукции сконструированные клетки окрашивали с помощью антитела к CD39/ENTPD1 человека, конъюгированного с APC (R&D Systems, Миннеаполис, Миннесота), и живые клетки, экспрессирующие ENTPD1 человека, отделяли от остальной части популяции посредством сортировки клеток с активированной флуоресценцией. Стабильную экспрессию ENTPD1 периодически повторно подтверждали с помощью

FACS с использованием вышеописанного антитела к CD39/ENTPD1 человека, конъюгированного с APC (1:100).

Клетки H520 идентифицировали в качестве линии раковых клеток, экспрессирующих ENTPD3 (Ct 25) и ENTPD8 (Ct 26), с помощью Taqman и использовали для скрининга на избирательность.

При использовании любого из тестируемых Ab к ENTPD2 человека не наблюдалось значительное связывание с какой-либо из контрольных линий клеток (таблица 25).

Таблица 25. Перекрестная реактивность mAb к ENTPD2 человека

	Кажущееся связывание, определенное с помощью FACS, при 50 нМ		
Антитело	Клетки NIH/3T3	NIH/3T3 - ENTPD1	Клетки H520
Антитело MAB1 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB2 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB3 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB4 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB5 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB6 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB7 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB8 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	> 100 нМ	Отсутствие связывания
Антитело MAB9 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания
Антитело MAB10 к ENTPD2 человека	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания	Отсутствие связывания

Эпитоп-специфическая сортировка с помощью системы Octet Red96

Эпитоп-специфическую сортировку антител к ENTPD2 человека проводили с помощью системы Octet Red96 (ForteBio, США), которая проводит измерения методом биослойной интерферометрии (BLI). Белок ENTPD2 человека-Avi-His_6 ("His6" раскрыт

под SEQ ID NO: 1010) биотинилировали с помощью AviTag™ с использованием биотинлигазы BirA согласно рекомендациям производителя (Avidity LLC, США, № по кат. BirA500). Биотинилированный иммуногенный остов загружали из расчета 0,5 мкг/мл на предварительно уравновешенные стрептавидиновые сенсоры (ForteBio, США). Затем сенсоры переносили в раствор, содержащий 100 нМ антитела A в 1X буфере для кинетического анализа (ForteBio, США). Сенсоры быстро промывали в 1X буфере для кинетического анализа и переносили во второй раствор, содержащий 100 нМ конкурирующего антитела. Кинетические характеристики связывания определяли на основании необработанных данных с помощью аналитического программного обеспечения для системы Octet Red96 (версия 9.0, ForteBio, США). Антитела тестировали во всех парных комбинациях в качестве как первого (блокирующего) антитела, связывающегося с hENTPD2, так и второго (конкурирующего) антитела. Все антитела демонстрировали значительное перекрестное блокирование в этом анализе, что указывает на то, что антитела mAb1-10 могут иметь сходные эпитопы.

Пример 5. Кристаллографическое исследование и картирование эпитопов для FAb22 антитела к ENTPD2 человека

В этом примере FAb22 антитела к ENTPD2 человека кристаллизовали в комплексе с эктодоменом ENTPD2 человека (с мутацией Y350A), и определяли соответствующую структуру. Анализ связывания FAb22 антитела к ENTPD2 человека с ENTPD2 человека на основе рентгенографических данных позволяет получить подробную информацию о вступлении в контакт с антигеном на молекулярном уровне и понять природу выявленных паратопов Fab и антигенных эпитопов.

Материалы и способы

Экспрессия и очистка Fab-фрагментов

Последовательности ДНК, кодирующие идентифицированные VH- и VL-домены, субклонировали в векторы экспрессии в клетках млекопитающих, содержащие соответствующие последовательности человеческого CH1 дикого типа и человеческой константной области легкой каппа-цепи. Рекомбинантные человеческие Fab получали посредством введения векторов в клетки путем транзиентной совместной трансфекции с использованием реагента для трансфекции. После трансфекции клетки культивировали в течение 5-6 дней, и осуществляли очистку антител. Клетки осаждали путем центрифугирования (2600 × g в течение 10 минут), и образцы надосадочной жидкости культуры клеток, содержащие антитело, осветляли путем фильтрации через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Fab очищали на колонках с белком G (GE Healthcare Life Sciences) и элюировали с использованием кислых условий элюирующего буфера.

Получение комплекса ENTPD2 человека и FAb22 антитела к ENTPD2 человека

Для получения комплекса ENTPD2-FAb22 1,3-кратный молярный избыток FAb22 объединяли с hENTPD2 Y350A в 20 мМ Трис, pH 7,5, со 150 мМ NaCl с получением конечной концентрации 5,65 мг/мл. Образец комплекса инкубировали на льду в течение 2 часов и передавали для постановки скрининга кристаллизации.

Кристаллизация и сбор рентгенографических данных

Кристаллы выращивали в 96-луночных планшетах (планшетах Crystalquick Plus от Greiner Bio-One) методом диффузии паров в сидячей капле. Подробно, 0,2 мкл исходного раствора белка смешивали с 0,2 мкл резервуарного раствора, и каплю уравновешивали против 50 мкл того же резервуарного раствора при 20°C. Эксперименты ставили с использованием роботизированной системы Phoenix (Art Robbins Instruments), и образцы хранили в специально сконструированном устройстве для визуализации кристаллов на опорной раме собственной разработки (Novartis GNF, системы для внутреннего пользования).

Для сбора рентгенографических данных один кристалл устанавливали непосредственно на криопетлю и подвергали мгновенному охлаждению в жидком азоте. Рентгенографические данные собирали в Advanced Light Source, BL5.03, с помощью CCD-детектора Quantum Q315 с использованием рентгеновского излучения с длиной волны 0,9765 Å. 180 изображений с углом поворота в 1,0° для каждого регистрировали на расстоянии от кристалла до детектора, составляющем 350 мм, и обрабатывали с помощью HKL2000 (Z. Otwinowski and W. Minor, "Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode", Methods in Enzymology, Volume 276: Macromolecular Crystallography, part A, p.307-326, 1997, C.W. Carter, Jr. & R. M. Sweet, Eds., Academic Press (New York).

Определение и анализ структуры

Структуру комплекса FAb22-ENTPD2 определяли посредством молекулярного замещения с помощью программы Phaser (McCoy et al., 2007, J Appl Crystallogr 40:658-674) с использованием уточненных структур ENTPD2 человека, ранее определенных в собственной лаборатории, и координат Fab антитела к RSV клона B21m (код PDB 3QRG) в качестве независимых поисковых моделей. Структуру уточняли с помощью итерационных циклов построения модели с последующим автоматическим кристаллографическим уточнением с помощью программ Coot 0.8.0 ("набор кристаллографических объектно-ориентированных инструментов"; Emsley et al., 2010, Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr; 66:486-501) и AutoBuster 2.11.5 (Bricogne et al., 2011, BUSTER версии 2.11.2. Кембридж, Великобритания: Global Phasing Ltd.).

Визуальный осмотр кристаллических структур осуществляли с помощью программ Coot (Emsley et al., 2010, Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr; 66:486-501) и PyMOL (молекулярно-графическая система; DeLano Scientific: Пало-Альто, Калифорния). Качество конечных уточненных моделей оценивали с помощью программ Coot и PROCHECK v3.3 (Laskowski et al., 1992, J Appl Crystallogr; 26:283-291). Остатки ENTPD2 человека, которые становятся менее доступными для растворителя при связывании с FAb22 антитела к ENTPD2 человека, идентифицировали с помощью программы AREAIMOL из пакета программ CCP4 ("совместный вычислительный проект номер 4", 1994). Межмолекулярные контакты определяли с использованием расстояния отсечения 4,0 Å и идентифицировали с помощью программы NCONT CCP4.

Результаты

Кристаллическая структура FAb22 антитела к hENTPD2 в комплексе с ENTPD2 человека

FAb22 антитела к hENTPD2 в комплексе с ENTPD2 человека с мутацией Y350A кристаллизовали в 96-луночных планшетах с помощью способа диффузии паров в сидячих каплях при 20°C. Кристаллы выращивали в 0,1 M HEPES, pH 7,5, 20% полиэтиленгликоле 3350, 0,2 M хлорида магния. Кристаллы появлялись спустя примерно 6 недель и вырастали до полного размера в течение нескольких дней.

Кристалл комплекса FAb22-ENTPD2 находился в пространственной группе C2 моноклинной сингонии с одним комплексом на асимметричную единицу. Полный набор дифракционных данных собирали для комплекса с разрешением до 2,75 ангстрема.

Определение структуры посредством молекулярного замещения проводили с использованием ранее определенных координат ENTPD2 человека и координат Fab согласно коду PDB 3QRG. Уточнение с помощью AutoBuster приводило к хорошим статистическим показателям уточнения и общим геометрическим параметрам. Два остатка FAb22 Ala55L и Tyr33H, а также четыре остатка ENTPD2 Gly120, Thr122, Tyr229 и Ala430 были полными маргинальными остатками по карте Рамачандрана в структуре комплекса FAb22-ENTPD2. Остатки ENTPD2 Gly120 и Thr122 в дополнение к остаткам Fab Ala55L и Tyr33H четко определены с точки зрения электронной плотности и по всей вероятности являются подлинными полными маргинальными остатками по геометрическому критерию. Примечательно, что Tyr33H представляет собой остаток CDR, участвующий в связывании с ENTPD2, как описано ниже. Остатки ENTPD2 Tyr229 и Ala430 неточно моделировались с точки зрения электронной плотности.

Аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи FAb22 антитела к ENTPD2 человека приведены на фиг. 3A с подчеркнутыми CDR (согласно определению по Kabat, 1991, Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No. 91-3242) и остатками, расположенными в области контакта Fab и антигена, отмеченными как *. Общий вид трехмерной структуры комплекса FAb22 антитела к ENTPD2 человека/ENTPD2 Y350A изображен на фиг. 6.

Аминокислотная последовательность рекомбинантного ENTPD2 человека, применяемого в данном примере (SEQ ID NO: 291), приведена на фиг. 4A. Растворимый внеклеточный домен ENTPD2 человека охватывает остатки 29-462. Сконструированная мутация Y350A присутствовала в конструкции и выделена серым цветом и курсивом. В конструкции, применяемой в данном случае, использовались N-концевой пептид GP67, являющийся сигналом секреции (первые 38 остатков), и C-концевая 6x-гистидиновая метка (SEQ ID NO: 1010). Asn64, Asn129, Asn294, Asn378 и Asn443 представляют собой предсказанные сайты N-связанного гликозилирования, из которых только те, в которых наблюдалось гликозилирование в кристаллической структуре, выделены серым цветом и курсивом. Элементы вторичной структуры показаны ниже аминокислотной последовательности, при этом прямоугольниками представлены α-спирали, а стрелками представлены β-тяжи. Остатки, для которых не отмечены элементы вторичной структуры,

представляют неструктурированные сегменты, являющиеся петлями и изгибами.

Аминокислотная последовательность ENTPD2 человека обладает высокой гомологией последовательности с соответствующими последовательностями из видов грызунов и других млекопитающих, а структура характеризуется общей укладкой, практически идентичной по отношению к описанной для ENTPD2 крысы (т. е. с кодом PDB 3CJA, Zebisch, M., Strater, N. (2008) Proc.Natl.Acad.Sci.Usa 105: 6882-6887). Инвариантные и консервативные спаривания с помощью дисульфидных связей наблюдаются для Cys75/Cys99, Cys242/Cys284, Cys265/Cys310, Cys323/Cys328 и Cys377/Cys399. RMSD (среднеквадратическое отклонение) для 388 α-атомов углерода C между структурами ENTPD2 человека и крысы составляет примерно 0,365 Å.

Конечная модель комплекса FAb22/ENTPD2 содержала остатки 37-448 ENTPD2. Активный центр для гидролиза ATP находится между двумя субдоменами (субдомен 1: Pro36-Ser161 и Lys427-Phe461; субдомен 2: Gly162-Gln426). Остатки ENTPD2, не включенные в конечную модель, включают в себя остатки 29-36 на N-конце и остатки 60-65, соответствующие остаткам петли, соединяющей тяжи β2 и β3, остатки 179-193, соответствующие петле, взаимодействующей с мембраной (MIL), и C-концевые остатки после Ile448. В конечную уточненную модель были включены все остатки тяжелой и легкой цепей Fab, за исключением концевых цистеиновых остатков (Cys228 в тяжелой цепи/Cys218 в легкой цепи).

FAb22 связывается с антигеном ENTPD2 преимущественно благодаря вступлению в контакт с предсказанной мембранодистальной долей посредством взаимодействий, в которых участвуют все 6 CDR вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей. Остатки CDR FAb22, по-видимому, в значительной степени не проникают в щель активного центра ENTPD2 и не влияют на связывание с ATP-субстратом. Остатки CDR3 и CDR2 тяжелой цепи секвестрируют остатки, включающие в себя и фланкирующие антипараллельный 2-тяжевой β-складчатый слой, состоящий из тяжей β10/β11. Концевые остатки CDR3 тяжелой цепи вступают в дополнительные связывающие контакты с остатками на N-конце спирали α14, а также спиралей α8 и α13. В связывающих взаимодействиях вариабельного домена легкой цепи с ENTPD2 участвуют главным образом остатки CDR1 и CDR3, которые преимущественно связываются с N-концом спирали α14. При образовании комплекса FAb22/ENTPD2 вглубь погружается примерно 16700 Å2 общей совокупной поверхности, доступной для растворителя, при практически равных вкладах тяжелой и легкой цепей Fab. Остатки эпитопа и паратопа, участвующие в непосредственных межмолекулярных контактах, рассчитанных в пределах расстояния отсечения 4,0 Å, перечислены в таблице 17 и отмечены на фиг. 3A и 4A. В непосредственных межмолекулярных контактах участвуют в общей сложности 25 остатков Fab и 26 остатков ENTPD2, при этом CDR тяжелой цепи предоставляют больше связывающихся остатков, чем CDR легкой цепи. Среди этих остатков паратопа Fab тирозиновые остатки CDR вносят вклад в большое количество контактов с ENTPD2, в которых участвуют 10 из 14 остатков Tyr CDR. Остатки CDR тяжелой цепи, участвующие

в межмолекулярных контактах, включают в себя остатки CDR1 Ser31, Gly32, Tyr33 и Tyr34; остатки CDR2 Tyr54, Asp55, Asp57; а также остатки CDR3 Tyr100, Tyr101, Arg102, Tyr103, Ser106, Tyr107, Asp112, Tyr113. Tyr27 из FR1 тяжелой цепи также вступает в контакт с антигеном ENTPD2. В связывании с ENTPD2 участвуют остатки CDR1 легкой цепи, включающие в себя Tyr31, Asp32, Gly33 и Tyr36, а также остатки CDR2 легкой цепи Glu59, Ser60 и остатки CDR3 Ser95, Asn96 и Asp98. Glu1, боковая цепь которого является неупорядоченной и не смоделирована в структуре комплекса, в дополнение к Gly61 в FR3 находятся в пределах расстояния контакта от сайта N-связанного гликозилирования, наблюдаемого для Asn294 в антигене ENTPD2 и выделенного на фиг. 3A.

Таблица 17. Остатки эпитопа и паратопа в FAb22/hENTPD2

Эпитоп ENTPD2 человека		**Паратоп FAb22 антитела к ENTPD2 человека**	
Структурный элемент	Контактирующие остатки	Контактирующие остатки	Структурный элемент
Петля β3-α1	Gly79	Asp32L, Gly33L	L-CDR1
α8	Gln250	Tyr103H	H-CDR3
	Leu253	Tyr103H	H-CDR3
Петля α8-β10	Trp266	Tyr107H	H-CDR3
	Arg268	Tyr54H, Asp55H, Asp57H	H-CDR2
	Gly269	Tyr34H Tyr54H, Asp55H	H-CDR1 H-CDR2
	Phe270	Tyr34H, Tyr54H Tyr101H, Tyr107H	H-CDR1, H-CDR2 H-CDR3
β10	Ser271	Gly32H, Tyr33H, Tyr34H Tyr54H, Tyr101H	H-CDR1 H-CDR2, H-CDR3
	Thr272	Tyr101H	H-CDR3
	Gln273	Tyr33H, Tyr103H Tyr100H, Tyr101H, Tyr113H	H-CDR1, H-CDR3 H-CDR3
	Val274	Tyr103H	H-CDR3
Петля β10-α9	Leu275	Arg102H	H-CDR3
α9	Asp278	Tyr103H	H-CDR3
β11	Arg298	Asp112H, Tyr113H Glu59L, Ser60L	H-CDR3 L-CDR2
	Ser300	Tyr27H, Tyr33H	H-FR1, H-CDR1
	Ser302	Ser31H, Gly32H	H-CDR1

		Tyr54H	H-CDR2
Петля β11-α10	Gly303	Tyr54H	H-CDR2
Петля α12-α13	Thr380	Asp57H	H-CDR2
α13	Trp381	Tyr34H, Tyr101H	H-CDR1, H-CDR3
	Ala382	Asp57H	H-CDR2
Петля α13-α14	Gly390	Tyr31L	L-CDR1
	Gln391	Tyr31L	L-CDR1
α14	Arg392	Tyr101H Ser95L, Asn96L, Asp98L	H-CDR3 L-CDR3
	Ala393	Ser106H Tyr31L, Tyr36L	H-CDR3 L-CDR1
	Arg394	Tyr31L, Asp32L	L-CDR1
	Asp397	Tyr107H	H-CDR3
Перечни непосредственно контактирующих остатков эпитопа и паратопа были получены на основании конечных уточненных координат из программы NCONT CCP4 с использованием расстояния отсечения 4,0 Å.			

Пример 6. Кристаллографическое исследование и картирование эпитопов для FAb23 антитела к ENTPD2 человека

В этом примере FAb23 антитела к ENTPD2 человека кристаллизовали в комплексе с эктодоменом ENTPD2 человека (с мутацией Y350A), и определяли соответствующую структуру. Анализ связывания FAb23 антитела к ENTPD2 человека с ENTPD2 человека на основе рентгенографических данных позволяет получить подробную информацию о вступлении в контакт с антигеном на молекулярном уровне и понять природу выявленных паратопов Fab и антигенных эпитопов.

Материалы и способы

Получение комплекса ENTPD2 человека и FAb23 антитела к ENTPD2 человека

Для получения комплекса ENTPD2-FAb23 1,6-кратный молярный избыток ENTPD2 объединяли с FAb23 в 20 мМ Трис, pH 7,5, со 100 мМ NaCl и концентрировали до 9,08 мг/мл путем ультрафильтрации, инкубировали на льду в течение 10 минут и передавали для постановки испытаний по кристаллизации.

Кристаллизация и сбор рентгенографических данных

FAb23 антитела к hENTPD2 в комплексе с ENTPD2 человека с мутацией Y350A кристаллизовали в 96-луночных планшетах (Greiner Bio-One) с помощью способа диффузии паров в сидячих каплях при 20°C. Подробно, 0,2 мкл исходного раствора белка смешивали с 0,2 мкл резервуарного раствора, и каплю уравновешивали против 50 мкл того же резервуарного раствора при 20°C. Эксперименты ставили с использованием роботизированной системы Phoenix (Art Robbins Instruments), и образцы хранили в

специально сконструированном устройстве для визуализации кристаллов на опорной раме собственной разработки (Novartis GNF, системы для внутреннего пользования).

Для сбора рентгенографических данных один кристалл устанавливали непосредственно на криопетлю и подвергали мгновенному охлаждению в жидком азоте. Наборы рентгенографических данных собирали в Advanced Light Source, BL5.03, с помощью CCD-детектора Quantum Q315r с использованием рентгеновского излучения с длиной волны 0,9765 Å. 140 изображений с углом поворота в 1,0° для каждого регистрировали на расстоянии от кристалла до детектора, составляющем 300 мм, и обрабатывали с помощью HKL2000 (Z. Otwinowski and W. Minor, "Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode", Methods in Enzymology, Volume 276: Macromolecular Crystallography, part A, p.307-326, 1997, C.W. Carter, Jr. & R. M. Sweet, Eds., Academic Press (New York).

Определение и анализ структуры

Структуру комплекса FAb23-ENTPD2 определяли посредством молекулярного замещения с помощью программы Phaser (McCoy et al., 2007, J Appl Crystallogr 40:658-674) с использованием уточненных координат ENTPD2 человека, ранее определенных в собственной лаборатории, и гомологичной модели FAb23, созданной с помощью инструмента для моделирования антител в программном обеспечении MOE (Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08; Chemical Computing Group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite № 910, Монреаль, Квебек, Канада, H3A 2R7, 2018), которая продемонстрировала высокое сходство последовательности с Fab-фрагментом ICSM 18, представляющего собой антитело к PRP (код PDB 4W9D), в качестве независимых поисковых моделей. Структуру уточняли с помощью итерационных циклов построения модели с последующим автоматическим кристаллографическим уточнением с помощью программ Coot 0.8.0 ("набор кристаллографических объектно-ориентированных инструментов"; Emsley et al., 2010, Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr; 66:486-501) и AutoBuster 2.11.5 (Bricogne et al., 2011, BUSTER версии 2.11.2. Кембридж, Великобритания: Global Phasing Ltd.).

Визуальный осмотр кристаллической структуры осуществляли с помощью программ Coot (Emsley et al., 2010, Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr; 66:486-501) и PyMOL (молекулярно-графическая система; DeLano Scientific: Пало-Альто, Калифорния). Качество конечных уточненных моделей оценивали с помощью программ Coot и PROCHECK v3.3 (Laskowski et al., 1992, J Appl Crystallogr; 26:283-291). Остатки ENTPD2 человека, которые становятся менее доступными для растворителя при связывании с Fab MAB17 антитела к ENTPD2 человека, идентифицировали с помощью программы AREAIMOL из пакета программ CCP4 ("совместный вычислительный проект номер 4", 1994). Межмолекулярные контакты определяли с использованием расстояния отсечения 4,0 Å и идентифицировали с помощью программы NCONT CCP4.

Результаты

Кристаллическая структура комплекса FAb23 антитела к hENTPD2/ENTPD2

FAb23 антитела к hENTPD2 в комплексе с ENTPD2 человека с мутацией Y350A кристаллизовали в 96-луночных планшетах с помощью способа диффузии паров в сидячих каплях при 20°C. Кристаллы выращивали в 0,08 М Бис-Трис-пропана, pH 8,8, 0,02 М лимонной кислоты, 16% PEG 3350. Кристаллы появлялись спустя примерно 6 недель и вырастали до полного размера в течение нескольких дней.

Кристалл комплекса FAb23-ENTPD2 находился в пространственной группе P21 моноклинной сингонии с одним комплексом на асимметричную единицу. Полный набор дифракционных данных собирали для комплекса с разрешением до 2,0 ангстрема. Конечную модель FAb23 в комплексе с ENTPD2 уточняли с помощью AutoBuster с хорошими статистическими показателями уточнения и общими геометрическими параметрами. В конечной модели присутствовали в общей сложности четыре полных маргинальных остатка по карте Рамачандрана, при этом два остатка были из легкой цепи FAb23 (Ser39 и Thr50) и два из ENTPD2 (Thr122 и Ala430). Для Ser39 в легкой цепи Fab электронная плотность была недостаточной, и его моделировали по приблизительным расчетам. Все другие остатки были надлежащим образом определены с точки зрения электронной плотности и по всей вероятности являются подлинными полными маргинальными остатками по карте Рамачандрана. Остатки ENTPD2, не включенные в конечную модель, включают в себя остатки 29-34 на N-конце и остатки после 448 на C-конце. Остатки 139-144 в константной области цепи FAb23 и концевой цистеин (Cys227) также не были включены в конечную модель. Последние два остатка в легкой цепи FAb23 (Glu212 и Cys213) также отсутствовали в конечной модели ввиду неупорядоченности.

Аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи FAb23 антитела к ENTPD2 человека приведены на фиг. 3B с подчеркнутыми CDR (согласно определению по Kabat, 1991, Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No. 91-3242) и остатками, расположенными в области контакта Fab и антигена, отмеченными как *. Общий вид трехмерной структуры комплекса FAb23/ENTPD2 Y350A изображен на фиг. 7.

В отличие от FAb22, связывание FAb23 с ENTPD2 предусматривает значительный контакт вариабельных доменов как тяжелой, так и легкой цепей как с мембранопроксимальной, так и с мембранодистальной долями. Вариабельная область тяжелой цепи образует CDR2- и CDR3-петли, участвующие в связывании с ENTPD2, при отсутствии вклада со стороны CDR1. В связывании с ENTPD2 участвуют остатки из всех трех 3 CDR вариабельной области легкой цепи. Контакты с мембранодистальной долей ENTPD2 обеспечиваются главным образом остатками из CDR3 тяжелой цепи, CDR2 легкой цепи и остатками из FR3 легкой цепи, связывающимися с остатками из петлевой области ENTPD2 между α13 и α14, а также взаимодействиями FR3 с антипараллельными тяжами β10/β11 и спиралью α9. Остатки CDR3 легкой цепи и CDR2 тяжелой цепи обеспечивают обширное связывание со спиралью α2 и остатками петли, соединяющей β3 и α1 мембранопроксимальной доли ENTPD2. Концевые остатки CDR3 тяжелой цепи Tyr104, Tyr105 и Gly106 выступают в щель активного центра ENTPD2 между N-концами спиралей α8, α11 и α14 мембранодистальной доли. Наложение аналога ATP AMP-PNP из

связанной кристаллической структуры ENTPD2 крысы PDB 3CJA позволяет предположить, что Tyr105 располагается там, где согласно предсказанию будет связываться адениновое кольцо ATP, что потенциально обуславливает стерическое затруднение связывания с субстратом. Tyr105 и Tyr104 на конце CDR3 тяжелой цепи также могут вносить возмущение в остатки активного центра ENTPD2, в том числе Tyr350 и Arg394, необходимые для π-π- и катион-π-стэкинг-взаимодействий с адениновым кольцом ATP-субстрата. При связывании FAb23 с ENTPD2 вглубь погружается примерно 17500 Å2 совокупной поверхности, доступной для растворителя. Остатки эпитопа и паратопа, участвующие в непосредственных межмолекулярных контактах, рассчитанных в пределах расстояния отсечения 4,0 Å, перечислены в таблице 18 и отмечены на фиг. 3B и 4A. В непосредственных межмолекулярных контактах участвуют 25 остатков Fab и 29 остатков ENTPD2. Остатки тяжелой цепи Tyr55, Ile57, Thr59, Gln62 из CDR2, а также Phe102, Tyr105, Ile107, Tyr110 из CDR3 вносят вклад в связывание с ENTPD2 при отсутствии вклада со стороны остатков из CDR1. Остатки легкой цепи, которые вносят вклад в связывание с ENTPD2, включают в себя Ser27 и Tyr31 из CDR1, Ser49 и Asn52 из CDR2, а также Trp90, Ser91, Ser92, Tyr93 и Trp95 из CDR3. Остатки легкой цепи, не относящиеся к CDR, которые вносят вклад в связывание с ENTPD2, включают в себя Glu1, который наблюдается и моделируется в кристаллической структуре как пироглутамат, Thr22 из FR1, а также Ser64, Gly65, Ser66, Gly67, Thr68 и Phe69 из FR3.

Таблица 18. Остатки эпитопа и паратопа в FAb23/ENTPD2 человека

Эпитоп ENTPD2 человека		**Паратоп FAb23 антитела к ENTPD2 человека**	
Структурный элемент	Контактирующие остатки	Контактирующие остатки	Структурный элемент
Петля β1-β2	His50	Ile107H	H-CDR3
β3	Asp76	Ile107H	H-CDR3
Петля β3-α1	Pro78	Tyr110H, Trp95L	H-CDR3, L-CDR3
	Gly79	Trp90L, Ser91L	L-CDR3
	Gly80	Ser91L	L-CDR3
α1	Tyr85	Ser91L, Ser92L, Tyr93L	L-CDR3
Петля α1-α2	Asp87	Ser27L	L-CDR1
	Asn88	Glu1L, Tyr93L	L-FR1, L-CDR3
α2	Gly91	Tyr93L	L-CDR3
	Gln94	Gln62H, Tyr93L	H-CDR2, L-CDR3
	Ser95	Tyr93L	L-CDR3
	Gly98	Ile57H, Thr59H	H-CDR2
	Glu101	Ile57H	H-CDR2
	Gln102	Tyr55H, Ile57H	H-CDR2

	Gln105	Tyr55H, Ile57H	H-CDR2
	Asp106	Tyr55H	H-CDR2
α8	Arg245	Tyr104H, Tyr105H	H-CDR3
β10	Thr272	Ser64L, Gly65L	L-FR3
	Gln273	Phe69L	L-FR3
	Leu275	Thr68L, Phe69L	L-FR3
α9	Asp278	Ser66L, Gly67L, Thr68L, Phe69L	L-FR3
β11	Arg298	Thr22L, Phe69L	L-FR1, L-FR3
Петля β12-α11	Ala347	Tyr105H	H-CDR3
α11	Ala350	Tyr105H	H-CDR3
	Thr351	Tyr105H	H-CDR3
Петля α13-α14	Arg392	Asn52L	L-CDR2
	Ala393	Phe102H, Tyr104H, Ser49L	H-CDR3, L-CDR2
	Arg394	Tyr104H, Tyr31L	H-CDR3, L-CDR1
α14	Tyr398	Tyr104H, Tyr105H	H-CDR3
Перечни непосредственно контактирующих остатков эпитопа и паратопа были получены на основании конечных уточненных координат из программы NCONT CCP4 с использованием расстояния отсечения 4,0 Å.			

Пример 7. Кристаллографическое исследование и картирование эпитопов для FAb24 антитела к ENTPD2 мыши

В этом примере Fab антитела MAB13 к ENTPD2 мыши кристаллизовали в комплексе с эктодоменом ENTPD2 мыши, и определяли соответствующую структуру. Анализ связывания FAb24 антитела к ENTPD2 мыши с ENTPD2 мыши на основе рентгенографических данных позволяет получить подробную информацию о вступлении в контакт с антигеном на молекулярном уровне и понять природу выявленных паратопов Fab и антигенных эпитопов.

Материалы и способы

Получение комплекса ENTPD2 мыши и FAb24 антитела к ENTPD2 мыши

Для получения комплекса ENTPD2 мыши и FAb24 очищенный ENTPD2 мыши и FAb24 в 20 мМ Трис, pH 7,5, со 100 мМ NaCl объединяли в молярном соотношении 1:1, инкубировали на льду при 4 градусах Цельсия в течение ночи. На следующее утро образец концентрировали до 9,88 мг/мл путем ультрафильтрации и передавали для постановки испытаний по кристаллизации.

Кристаллизация и сбор рентгенографических данных

FAb24 антитела к ENTPD2 мыши в комплексе с ENTPD2 с мутацией Y350A кристаллизовали в 96-луночных планшетах (Greiner Bio-One) с помощью способа

диффузии паров в сидячих каплях при 20°C. Подробно, 0,2 мкл исходного раствора белка смешивали с 0,2 мкл резервуарного раствора, и каплю уравновешивали против 50 мкл того же резервуарного раствора при 20°C. Эксперименты ставили с использованием роботизированной системы Phoenix (Art Robbins Instruments), и образцы хранили в специально сконструированном устройстве для визуализации кристаллов на опорной раме собственной разработки (Novartis GNF, системы для внутреннего пользования).

Для сбора рентгенографических данных один кристалл устанавливали непосредственно на криопетлю и подвергали мгновенному охлаждению в жидком азоте. Наборы рентгенографических данных собирали в SSRL в канале синхротронного излучения 7-1, оснащенном CCD-детектором ADSC Quantum 315r, с использованием рентгеновского излучения с длиной волны 1,1808 Å. 340 изображений с углом поворота в 0,5° для каждого регистрировали на расстоянии от кристалла до детектора, составляющем 400 мм, и обрабатывали с помощью HKL2000 (Z. Otwinowski and W. Minor, "Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode", Methods in Enzymology, Volume 276: Macromolecular Crystallography, part A, p.307-326, 1997, C.W. Carter, Jr. & R. M. Sweet, Eds., Academic Press (New York).

Определение и анализ структуры

Структуру комплекса FAb24-ENTPD2 мыши определяли посредством молекулярного замещения с помощью программы Phaser (McCoy et al., 2007, J Appl Crystallogr 40:658-674) с использованием уточненных структур ENTPD2 мыши и FAb24, ранее определенных в собственной лаборатории, в качестве независимых поисковых моделей. Структуру уточняли с помощью итерационных циклов построения модели с последующим автоматическим кристаллографическим уточнением с помощью программ Coot 0.8.0 ("набор кристаллографических объектно-ориентированных инструментов"; Emsley et al., 2010, Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr; 66:486-501) и AutoBuster 2.11.5 (Bricogne et al., 2011, BUSTER версии 2.11.2. Кембридж, Великобритания: Global Phasing Ltd.).

Визуальный осмотр кристаллической структуры осуществляли с помощью программ Coot (Emsley et al., 2010, Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr; 66:486-501) и PyMOL (молекулярно-графическая система; DeLano Scientific: Пало-Альто, Калифорния). Качество конечных уточненных моделей оценивали с помощью программ Coot и PROCHECK v3.3 (Laskowski et al., 1992, J Appl Crystallogr; 26:283-291). Остатки ENTPD2 мыши, которые становятся менее доступными для растворителя при связывании с FAb24 антитела к ENTPD2 мыши, идентифицировали с помощью программы AREAIMOL из пакета программ CCP4 ("совместный вычислительный проект номер 4", 1994). Межмолекулярные контакты определяли с использованием расстояния отсечения 4,0 Å и идентифицировали с помощью программы NCONT CCP4.

Структуру комплекса FAb24-ENTPD2 мыши определяли посредством молекулярного замещения с помощью программы Phaser (McCoy et al., 2007, J Appl Crystallogr 40:658-674) с использованием уточненных структур ENTPD2 мыши и FAb24,

ранее определенных в собственной лаборатории, в качестве независимых поисковых моделей. Структуру уточняли с помощью итерационных циклов построения модели с последующим автоматическим кристаллографическим уточнением с помощью программ Coot 0.8.0 ("набор кристаллографических объектно-ориентированных инструментов"; Emsley et al., 2010, Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr; 66:486-501) и AutoBuster 2.11.5 (Bricogne et al., 2011, BUSTER версии 2.11.2. Кембридж, Великобритания: Global Phasing Ltd.).

Результаты

Кристаллическая структура комплекса FAb24 антитела к ENTPD2 мыши/ENTPD2 мыши

FAb24 антитела к ENTPD2 мыши в комплексе с ENTPD2 мыши кристаллизовали в 96-луночных планшетах с помощью способа диффузии паров в сидячих каплях при 20°C. Кристаллы выращивали в 0,2 M цитрата триаммония, pH 7,0, 20% PEG 3350. Кристаллы появлялись спустя примерно 1 месяц и вырастали до полного размера в течение нескольких дней.

Кристалл комплекса FAb24-ENTPD2 мыши находился в пространственной группе P21 моноклинной сингонии с одним комплексом на асимметричную единицу. Полный набор дифракционных данных собирали для комплекса с разрешением до 3,0 ангстрема. Конечную модель FAb24 в комплексе с ENTPD2 мыши уточняли с помощью AutoBuster с хорошими статистическими показателями уточнения и общими геометрическими параметрами. В конечной модели присутствовали два полных маргинальных остатка по карте Рамачандрана - Thr122 в ENTPD2 мыши и Ala57 в FAb24, оба из которых были четко определены с точки зрения электронной плотности. Asn129 и Asn378 были единственными остатками, в которых наблюдалось N-связанное гликозилирование. Glu1 в тяжелой цепи FAb24 наблюдался и моделировался как пироглутамат. Остатки ENTPD2 мыши, не включенные в конечную модель, включают в себя остатки 29-35 на N-конце, остатки 61-66, соответствующие остаткам петли, соединяющей тяжи β2 и β3, остатки 182-194, соответствующие петле, взаимодействующей с мембраной (MIL), остатки петли 290-293 между α9 и β11 и C-концевые остатки после Ala450. В конечную уточненную модель были включены все остатки тяжелой и легкой цепей FAb24, за исключением концевого цистеина Cys225 в тяжелой цепи.

Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей FAb24 антитела к ENTPD2 мыши приведены на фиг. 3C с подчеркнутыми CDR (согласно определению по Kabat, 1991, Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No. 91-3242) и остатками, расположенными в области контакта Fab и антигена, отмеченными как *. Общий вид трехмерной структуры комплекса FAb24/mENTPD2 изображен на фиг. 8.

FAb24 антитела к ENTPD2 мыши вступает в контакт преимущественно с предполагаемой мембранодистальной долей (остатками G162-E426) антигена ENTPD2. Для остатков CDR вариабельных доменов тяжелой цепи и легкой цепи наблюдается равный вклад в связывание с ENTPD2.

По сравнению с FAb22 и FAb23, связывающимися с ENTPD2 человека, FAb24 вступает в контакт с ENTPD2 мыши в совершенно другом направлении, перпендикулярном наблюдаемому в комплексах FAb22 и FAb23 с hENTPD2. FAb24 связывается преимущественно с мембранодистальной долей ENTPD2 мыши посредством обширных взаимодействий CDR тяжелой цепи и относительно немногочисленных взаимодействий CDR легкой цепи. Остатки CDR1 и CDR3 тяжелой цепи совместно с остатками CDR1 и CDR2 легкой цепи связываются со спиралями α11 и α13 в mENTPD2. Остатки CDR2 тяжелой цепи вступают во взаимодействия с остатками взаимосоединяющей петли между α13 и α14. CDR3 тяжелой цепи наблюдается в конформации, при которой она изогнута под углом почти в 90 градусов и содержит короткий мотив в виде β-изгиба на своем конце. В единственные контакты с проксимальной долей ENTPD2 мыши вступают два остатка FR3 тяжелой цепи посредством взаимодействий с β3 5-тяжевого антипараллельного складчатого слоя. В антителе MAB13 не наблюдаются CDR, проходящие в активный центр ENTPD2 достаточно далеко, чтобы влиять на активность гидролиза ATP посредством прямого затруднения функции субстратсвязывающего центра. При связывании FAb24 с ENTPD2 мыши вглубь погружается примерно 16300 Å2 общей совокупной поверхности, доступной для растворителя. Остатки эпитопа и паратопа, участвующие в непосредственных межмолекулярных контактах, рассчитанных в пределах расстояния отсечения 4,0 Å, перечислены в таблице 19 и отмечены на фиг. 3C и 4B. В непосредственных межмолекулярных контактах участвуют 22 остатка Fab и 18 остатков ENTPD2 мыши, которые образуют паратоп и эпитоп, наблюдаемые при вступлении в контакт Fab и ENTPD2. Остатки CDR тяжелой цепи включают в себя Thr28, Thr30, His31, Tyr32 и Gly33 в CDR1; Trp50, Asn52, Thr53, а также Asp54, Thr55 в CDR2; Tyr99, Gly100, Thr101, Leu102, Tyr103 и Phe110 в CDR3. Два остатка Thr74 и Ser75 из FR3 тяжелой цепи также вносят вклад в связывание. Остатки CDR легкой цепи, которые вносят вклад в связывание, включают в себя Thr34 и Lys36 из CDR1, Tyr56 из CDR2, а также Trp97 из CDR3.

Таблица 19. Остатки эпитопа и паратопа в FAB24/ENTPD2 мыши

Эпитоп ENTPD2 мыши		**Паратоп FAb24 антитела к ENTPD2 мыши**	
Структурный элемент	Контактирующие остатки	Контактирующие остатки	Структурный элемент
β3	Ser74	Ser75H	H-FR3
	Cys75	Ser75H	H-FR3
	Asp76	Thr74H, Ser75H	H-FR3
α11	Tyr349	Thr28H	H-CDR1
	Tyr350	Thr28H, His31H	H-CDR1
	Asp353	Thr28H, His31H	H-CDR1

	Phe354	His31H	H-CDR1
	Thr357	Tyr32H Thr101H, Leu102H, Tyr103H	H-CDR1 H-CDR3
	Val358	Tyr32H Thr101H, Tyr103H	H-CDR1 H-CDR3
Петля α11-α12	Gly360	Tyr103H	H-CDR3
α13	Gln385	Thr34L	L-CDR1
	Ala386	Phe110H Lys36L Tyr56L	H-CDR3 L-CDR1 L-CDR2
	Arg387	Gly100H, Thr101H	H-CDR3
Петля α13-α14	Val388	His31H	H-CDR1
	Pro389	Tyr99H, Gly100H, Phe110H Trp97L	H-CDR3 L-CDR3
	Gly390	Trp50H	H-CDR2
	Gln391	Thr30H, Tyr32H, Gly33H Trp50H, Asn52H, Thr53H, Asp54H	H-CDR1 H-CDR2
	Thr393	Asp54H, Thr55H	H-CDR2
	Arg394	Asp54H	H-CDR2
α14	Tyr398	His31H	H-CDR1
Перечни непосредственно контактирующих остатков эпитопа и паратопа были получены на основании конечных уточненных координат из программы NCONT CCP4 с использованием расстояния отсечения 4,0 Å.			

Пример 8. Ингибирование роста опухоли с помощью антитела MAB13 к ENTPD2 в комбинации с Ab к PD-1 в сингенной модели опухоли из клеток B16LM3

Модель из клеток B16LM3 формировали у самок мышей C57BL/6 посредством подкожной инъекции $0,5 \times 10^6$ клеток в правый бок каждой мыши. Через день после имплантации мышей рандомизировали в группы обработки (n=10 на группу). Мыши получали обработку с помощью антитела mAb13 к ENTPD2 мыши либо неспецифичного изотипического контроля mIgG2a (клон MOPC-173, BioLegend, Сан-Диего, Калифорния) в конечной дозе 15 мг/кг в дни 1, 5, 8, 12, 15.

Ab к PD-1 (клон RMP1-14, Bio X Cell, Вест-Лебанон, Нью-Гэмпшир) или неспецифичный изотипический контроль rIgG2a (клон RTK2758, BioLegend, Сан-Диего,

Калифорния) доставлялся i.p. в конечной дозе 10 мг/кг в дни 1, 5, 8, 12, 15. Все дозы корректировали в соответствии с индивидуальной массой тела мышей.

Все тестируемые средства хорошо переносились на протяжении исследования, и выраженные клинические симптомы токсичности или потери массы тела не наблюдались ни в одной из групп обработки. Комбинация обработки с помощью антитела mAb13 к ENTPD2 мыши и Ab к PD-1 значимо продлевала выживаемость мышей по сравнению с отсутствием обработки ($p < 0,005$), изотипическим контролем ($p < 0,05$) или Ab к PD-1 ($p < 0,01$) (для определения того, значимо ли различались кривые выживаемости, использовали логарифмический ранговый критерий (Кокса-Мантеля)) (фиг. 9).

Пример 9. Комбинированная обработка с помощью антитела mAb13 к ENTPD2 и Ab к PD-1 в сингенной модели опухоли B16F10 индуцирует приток активированных Т-клеток в опухоль

Модель B16F10 формировали у самок мышей C57BL/6 посредством подкожной инъекции $0,5 \times 10^6$ клеток в правый бок каждой мыши. В день 7, после того как опухоли достигали примерно 30 $мм^3$, мышей рандомизировали в соответствии с объемом опухоли в группы обработки (n=10 на группу). Мыши получали обработку с помощью антитела mAb13 к ENTPD2 мыши в конечной дозе 15 мг/кг, Ab к PD-1 (клон RMP1-14, Bio X Cell, Вест-Лебанон, Нью-Гэмпшир) i.p. в конечной дозе 10 мг/кг либо комбинацию обоих видов обработки в дни 1, 5 и 8. Все дозы корректировали в соответствии с индивидуальной массой тела мышей.

После обработки с помощью антитела mAb13 к ENTPD2 мыши или Ab к PD-1 в отдельности не наблюдалась значимая противоопухолевая эффективность, однако в группе, получавшей комбинацию антитела mAb13 к ENTPD2 мыши и Ab к PD-1, наблюдалось значимое снижение интенсивности роста опухоли по сравнению с контролем без обработки ($p < 0,05$, однофакторный ANOVA/критерий Тьюки для множественных сравнений) (фиг. 10A-10B).

Для того, чтобы понять влияние видов обработки на микроокружение опухоли, мышей подвергали эвтаназии в день 8, и опухоли диссоциировали в среде HyClone RPMI1640 (GE Healthcare, Питтсбург, Пенсильвания) с использованием пробирок gentleMACS C (Miltenyi Biotec, Оберн, Калифорния) на диссоциаторе gentleMACS Octo (Miltenyi Biotec, Оберн, Калифорния). Примерно 2×10^6 диссоциированных опухолевых клеток блокировали с помощью Ab крысы к CD16/CD32 мыши (Biolegend, Сан-Диего, Калифорния) для снижения неспецифичного связывания с FcγRIII/II и затем окрашивали с помощью следующего коктейля Ab: антитело крысы к CD45 мыши, конъюгированное с BUV395 (клон 30-F11) (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния), антитело крысы к CD8a мыши, конъюгированное с BUV737 (клон 53-6.7) (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния), антитело крысы к CD4 мыши, конъюгированное с BV510 (клон RM4-5) (BD Bioscience, Сан-Хосе, Калифорния), антитело к CD69 мыши, конъюгированное с PercPCy5.5 (клон H1-2F3) (Biolegend, Сан-Диего, Калифорния), и антитело крысы к CD25 мыши, конъюгированное с eFluor450 (клон eBio3C7) (eBioscience, Сан-Диего,

Калифорния), в разведениях согласно рекомендациям производителя. Все процедуры инкубирования и промывания проводили в буфере для FACS, состоящем из 1x фосфатно-солевого буферного раствора HyClone (GE Healthcare, Питтсбург, Пенсильвания), 1% фетальной бычьей сыворотки крови HyClone (GE Healthcare, Питтсбург, Пенсильвания), 2 мМ EDTA (ThermoFisher, Уолтем, Массачусетс). После окрашивания с помощью коктейля антител к антигенам клеточной поверхности диссоциированные опухолевые клетки промывали в буфере для FACS, фиксировали и пермеабилизировали с помощью набора буферов для окрашивания Foxp3/факторов транскрипции eBioscience (ThermoFisher, Уолтем, Массачусетс) для обеспечения возможности внутриклеточного окрашивания с помощью антитела мыши к FOXP3 мыши, конъюгированного с eFluor660 (клон 150D/E4) (eBioscience, Сан-Диего, Калифорния).

При использовании комбинированной обработки с помощью антитела mAb13 к ENTPD2 мыши и Ab к PD-1 наблюдался значительный приток активированных CD4+ Т-клеток-хелперов (определенных как CD45+ CD8- CD4+ FOXP3- CD69+ CD25+) (7,0-кратное увеличение по сравнению с отсутствием обработки, $p < 0,0001$, однофакторный ANOVA/критерий Тьюки для множественных сравнений) и CD8+ Т-клеток (определенных как CD45+ CD4- CD8+ CD69+ CD25+) (5,8-кратное изменение по сравнению с отсутствием обработки, $p < 0,05$, однофакторный ANOVA/критерий Тьюки для множественных сравнений) по сравнению со всеми другими группами обработки (фиг. 10C).

Пример 10. Дозозависимая эффективность антител mAb1 и mAb6 к ENTPD2 человека в комбинации с Ab к PD-1 in vivo в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, на мышах C57BL/6

Чтобы продемонстрировать целенаправленную противоопухолевую активность Ab к ENTPD2 человека in vivo, была разработана модель из клеток B16LM3 клона 5, сконструированная для экспрессии ENTPD2 человека. Эта модель была получена из модели меланомы из клеток B16LM3, где был осуществлен нокаут эндогенной экспрессии ENTPD2 мыши посредством введения белка CAS9 с последовательностями направляющей РНК CRISPR, направленных на ENTPD2 мыши, путем транзиентной электропорации, а сверхэкспрессия белка ENTPD2 человека обеспечивалась с помощью подхода ретровирусной трансдукции. Экспрессию ENTPD2 человека в модели подтверждали in vitro с помощью FACS с использованием антитела mAb17 к ENTPD2 человека, избирательно воздействующего на ENTPD2 человека. Для демонстрации полного нокаута эндогенного ENTPD2 мыши использовали антитело mAb13 к ENTPD2 мыши, избирательно воздействующее на ENTPD2 мыши (фиг. 11A). Модель из клеток B16LM3 клона B5 демонстрировала кинетические характеристики роста, сравнимые с исходной линией, и устойчивую экспрессию ENTPD2 человека у сингенного хозяина (фиг. 11B).

Модель из клеток B16LM3 клона B5, сконструированную для экспрессии ENTPD2 человека, формировали у самок мышей C57BL/6 посредством подкожной инъекции 0,5 ×

10^6 клеток в правый бок каждой мыши. После того как опухоли достигали примерно 35-50 $мм^3$, мышей рандомизировали в соответствии с объемом опухоли в группы обработки (n=8 на группу). Мыши получали обработку путем i.v. введения антитела mAb1 или mAb6 к ENTPD2 человека в конечной дозе 0,1, 1 или 10 мг/кг либо неспецифичного изотипического контроля IgG1 человека из расчета 10 мг/кг в день 1 исследования. Дозы Ab к PD-1 (клон RMP1-14, Bio X Cell, Вест-Лебанон, Нью-Гэмпшир) вводили i.p. при конечной дозе 10 мг/кг в D1 и D5. Все дозы корректировали в соответствии с индивидуальной массой тела мышей. Все тестируемые средства хорошо переносились на протяжении исследования, и выраженные клинические симптомы токсичности или потери массы тела не наблюдались ни в одной из групп обработки (таблица 23).

После обработки с помощью антитела mAb1 или mAb6 к ENTPD2 человека в качестве средств монотерапии или комбинации неспецифичного изотипического контроля и Ab к PD-1 не наблюдалась значимая противоопухолевая эффективность. Комбинированный режим применения антитела mAb1 к ENTPD2 человека и Ab к PD-1 (в фиксированной дозе 10 мг/кг) демонстрировал дозозависимый противоопухолевый эффект со значением $\Delta T/\Delta C$, составляющим 18,4% (10 мг/кг), 35,7% (1 мг/кг) и 33,4% (0,1 мг/кг). Аналогичным образом, комбинированный режим применения антитела mAb6 к ENTPD2 человека и Ab к PD-1 (в фиксированной дозе 10 мг/кг) также демонстрировал дозозависимый противоопухолевый эффект со значением $\Delta T/\Delta C$, составляющим 29,2% (10 мг/кг), 27,3% (1 мг/кг) и 41,0% (0,1 мг/кг) (таблица 23 и фиг. 12A-12B).

Таблица 23. Дозозависимая эффективность Ab к ENTPD2 человека в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, в день 7 обработки

	mAb к ENTPD2 человека	Ab к PD-1	Ответ опухоли	Ответ хозяина	
Обработка	Доза, схема введения	Доза, схема введения	$\Delta T/\Delta C$ (%)	Δ массы тела (%)	Выживаемость (живые/общее количество)
Без обработки	Отсутствует	Отсутствует		0,1	8/8
Изотипический контроль+Ab к PD-1	10 мг/кг при введении дозы в D1	10 мг/кг при введении дозы в D1 и D5	61,2	0,0	8/8

Антитело mAb1 к ENTPD2 человека+Ab к PD-1	10 мг/кг при введении дозы в D1	10 мг/кг при введении дозы в D1 и D5	18,4**	-1,2	8/8
Антитело mAb1 к ENTPD2 человека+Ab к PD-1	1 мг/кг при введении дозы в D1	10 мг/кг при введении дозы в D1 и D5	35,7*	-2,9	8/8
Антитело mAb1 к ENTPD2 человека+Ab к PD-1	0,1 мг/кг при введении дозы в D1	10 мг/кг при введении дозы в D1 и D5	33,4*	-0,3	8/8
Антитело mAb6 к ENTPD2 человека+Ab к PD-1	10 мг/кг при введении дозы в D1	10 мг/кг при введении дозы в D1 и D5	29,2*	-1,9	8/8
Антитело mAb6 к ENTPD2 человека+Ab к PD-1	1 мг/кг при введении дозы в D1	10 мг/кг при введении дозы в D1 и D5	27,3*	-1,6	8/8
Антитело mAb6 к ENTPD2 человека+Ab к PD-1	0,1 мг/кг при введении дозы в D1	10 мг/кг при введении дозы в D1 и D5	41,0	0,2	8/8
Антитело mAb1 к ENTPD2 человека	10 мг/кг при введении дозы в D1	Отсутствует	71,7	-0,2	8/8

Антитело mAb6 к ENTPD2 человека	10 мг/кг при введении дозы в D1	Отсутствует	60,0	-0,1	8/8
Эксперимент оценивали в день 7 обработки, * $p < 0,05$, ** $p < 0,005$ по сравнению с контрольной группой без обработки (однофакторный ANOVA/критерий Тьюки для множественных сравнений). % $\Delta T/\Delta C=100\ \Delta T/\Delta C$, где: ΔT=средний объем опухоли в группе, получавшей обработку лекарственным средством, в D7 исследования - средний объем опухоли в группе, получавшей обработку лекарственным средством, в начальный день введения доз; ΔC=средний объем опухоли в контрольной группе в D7 исследования - средний объем опухоли в контрольной группе в начальный день введения доз D1. Δ массы тела (%) = (средняя масса тела в D28 - средняя масса тела в D1)*100/средняя масса тела в D1 обработки.					

Пример 11. Активность mAb к ENTPD2 человека в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, на мышах C57BL/6

Для того, чтобы понять непосредственное влияние блокады ENTPD2 с точки зрения задействования иммунных путей, у мышей C57BL/6 собирали плазму крови и опухоли из клеток B16LM3 клона B5 (средний объем опухоли ~ 170 мм^3) через 24 ч. после обработки с помощью антитела mAb1 к ENTPD2 человека или изотипического контроля из расчета 10 мг/кг. Антитело mAb1 к ENTPD2 человека не характеризуется перекрестной реактивностью с ENTPD2 мыши, поэтому любое модулирование уровней цитокинов в периферических отделах будет отражать изменения в микроокружении опухоли.

Вкратце, плазму крови выделяли посредством сбора крови в пробирку с литий-гепарином для сбора крови и получения плазмы крови Microvette MV-H-300 (SAI Infusion Technologies, Лейк-Вилла, Иллинойс) и ее осаждения путем центрифугирования при 1000-2000 × g в течение 10 мин. Образцы плазмы крови хранили при -80°C до применения. Образцы опухолей иссекали хирургическим путем и подвергали мгновенной заморозке в жидком азоте. Опухолевую ткань затем гомогенизировали в реагенте для экстракции белков из тканей T-PER (ThermoFisher, Уолтем, Массачусетс) с помощью прибора TissueLyser (Qiagen, Германия). Образцы лизатов опухолей осаждали путем центрифугирования при 11000 об./мин в течение 15 мин, и образцы надосадочной жидкости собирали для анализа концентрации белков с помощью набора для анализа белков с BCA Pierce (ThermoFisher, Уолтем, Массачусетс). 200 мкг белка или 25 мкл неразбавленной плазмы крови использовали для анализа цитокинов с помощью набора для 29-плексного анализа мышиных цитокинов V-PLEX (MSD, Роквилл, Мэриленд) согласно рекомендациям производителя.

При использовании обработки с помощью антитела mAb1 к ENTPD2 человека

наблюдалось значительное уменьшение уровня MCP1 в плазме крови ($p < 0,05$, непарный t-критерий), сопровождающееся примерно 2-кратным увеличением уровня MCP1 в очаге опухоли (фиг. 13B и 13D), что потенциально отражает задействование миелоидных клеток и привлечение их в очаг опухоли. Кроме того, наблюдались примерно 2-кратное уменьшение уровня IL-1β в плазме крови от животных, обработанных антителом mAb1 к ENTPD2 человека ($p=0,05$, непарный t-критерий) и тенденция, позволяющая предположить параллельное снижение в очаге опухоли (фиг. 13A и 13C).

Пример 12. Активность mAb к ENTPD2 человека в комбинации с антагонистом A2AR в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, на мышах C57BL/6

Модель из клеток B16LM3 клона B5, сконструированную для экспрессии ENTPD2 человека, формировали у самок мышей C57BL/6 посредством подкожной инъекции $0,5 \times 10^6$ клеток в правый бок каждой мыши. После того как опухоли достигали примерно 50 $мм^3$, мышей рандомизировали в соответствии с объемом опухоли в группы обработки ($n=8$ на группу). Мыши получали обработку путем внутривенного (i.v.) введения антитела mAb1 к ENTPD2 в конечной дозе 10 мг/кг либо неспецифичного изотипического контроля IgG1 человека из расчета 10 мг/кг в день 1 исследования. NIR178 вводили перорально (p.o.) с 4 днями приема и 3 днями без приема, начиная в начале исследования из расчета 50 мг/кг либо 200 мг/кг. Все дозы корректировали в соответствии с индивидуальной массой тела мышей. Исследование осуществляли в течение тринадцати дней после начала лечения, и объемы опухолей оценивали один раз в два дня для оценки эффективности. Все тестируемые средства хорошо переносились на протяжении исследования, и выраженные клинические симптомы токсичности или потери массы тела не наблюдались ни в одной из групп обработки (таблица 27).

Таблица 27. Эффективность Ab к ENTPD2 человека и антагониста A2AR in vivo в ксенотрансплантатной модели из клеток B16LM3 клона B5, сконструированной для экспрессии ENTPD2 человека, в день 13 обработки

	Антитело к ENTPD2 человека или mAb изотипического контроля	NIR178 или среда-носитель	Ответ опухоли	Ответ хозяина	
Обработка	Доза, схема введения	Доза, схема введения	ΔT/ΔC (%)	Δ массы тела (%)	Выживаемость (живые/общее количество)
Без обработки	Отсутствует	Отсутствует		-2,2	6/8

Среда-носитель+изотипический контроль hIgG1	10 мг/кг при введении дозы в D1	4 дня приема/3 дня без приема	96,9	-2,0	6/8
NIR178+изотипический контроль hIgG1	10 мг/кг при введении дозы в D1	50 мг/кг, 4 дня приема/3 дня без приема	123,6	-1,4	7/8
NIR178+изотипический контроль hIgG1	10 мг/кг при введении дозы в D1	200 мг/кг, 4 дня приема/3 дня без приема	93,3	-2,5	6/8
NIR178+антитело mAb1 к ENTPD2 человека	10 мг/кг при введении дозы в D1	50 мг/кг, 4 дня приема/3 дня без приема	61,6	1,3	8/8
Эксперимент оценивали в день 13 после обработки. % ΔT/ΔC=100 ΔT/ΔC, где: ΔT=средний объем опухоли в группе, получавшей обработку лекарственным средством, в D13 исследования - средний объем опухоли в группе, получавшей обработку лекарственным средством, в начальный день введения доз; ΔC=средний объем опухоли в контрольной группе в D13 исследования - средний объем опухоли в контрольной группе в начальный день введения доз D1. Δ массы тела (%) = (средняя масса тела в D28 - средняя масса тела в D1)*100/средняя масса тела в D1 обработки.					

После обработки с помощью комбинации неспецифичного изотипического контроля и антагониста A2AR NIR178 из расчета 50 либо 200 мг/кг не наблюдалась значимая противоопухолевая эффективность. Комбинированный режим применения антитела mAb1 к ENTPD2 (10 мг/кг) и NIR178 (50 мг/кг) демонстрировал противоопухолевый эффект со значением ΔT/ΔC, составляющим 61,6% (таблица 27 и фиг. 14). Эти данные позволяют предположить, что при блокировании нескольких узлов аденозинового сигнального пути имеет место повышенная противоопухолевая эффективность.

Пример 13. Оценка Ab к ENTPD2 в биохимических и клеточных функциональных анализах

Биохимические и клеточные функциональные анализы разрабатывали в собственной лаборатории, чтобы понять функциональное влияние Ab к ENTPD2, направленного на очищенный внеклеточный домен ENTPD2 (остатки 29-462), а также на

полностью интактный белок в случае с нативной клеточной конформацией. ENTPD2 гидролизует ATP до ADP, который затем можно выявить с помощью анализа ADP2 Transcreener методом TR-FRET HTRF в красной области спектра (BellBrook Labs, Мэдисон, Висконсин), где ADP, продуцируемый под действием ENTPD2, будет конкурировать с ADP, меченным радиоактивным изотопом, за связывание с антителом к ADP, конъюгированным с Tb. Образующийся в результате сигнал обратно пропорционален концентрации ADP в образце.

Для оценивания активности Ab к ENTPD2 в биохимическом анализе ENTPD2 Ab к ENTPD2 и рекомбинантный ENTPD2 (остатки 29-462) разбавляли в реакционном буфере (50 мМ HEPES, pH 7,1, 10 мМ $MgCl_2$, 0,01% BSA) до необходимой концентрации. 4 мкл на лунку раствора ENTPD2 и 2 мкл на лунку раствора Ab к ENTPD2 переносили в ProxiPlate (PerkinElmer, Уолтем, Массачусетс) и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем инициировали реакцию посредством добавления 2 мкл ATP (конечная концентрация в анализе 1 мкМ), и образец инкубировали в течение 25 мин при комнатной температуре. Реакцию гасили с помощью 200 мМ EDTA/200 мМ EGTA (5 мкл на лунку), и в лунки добавляли реагенты для выявления (5 мкл на лунку) при конечной концентрации 4 нМ антитела ADP2 и 4 нМ ADP, меченного радиоактивным изотопом, в лунке (BellBrook Labs, Мэдисон, Висконсин). Планшет затем инкубировали при комнатной температуре в течение 60 мин перед измерением сигнала HTRF.

Для осуществления клеточных функциональных анализов клетки NIH/3T3, сконструированные для экспрессии ENTPD2 человека/макака-крабоеда/мыши, или раковые клетки ободочной и прямой кишки RKO (ATCC, Манассас, Виргиния) с эндогенной экспрессией ENTPD2 высевали в течение ночи из расчета 150, 200 и 250 клеток на лунку для линий NIH/3T3, экспрессирующих соответственно ENTPD2 мыши, макака-крабоеда и человека, или 1000 клеток на лунку для RKO в 384-луночный планшет для культивирования тканей в 30 мкл на лунку (Perkin Elmer, Уолтем, Массачусетс). На следующий день клетки предварительно инкубировали с Ab к ENTPD2 дозозависимым образом в течение 60 мин при 37°C, 5% CO_2 (10 мкл 5X дозы антитела на лунку) и затем стимулировали с помощью ATP в конечной концентрации 10 мкМ (Teknova, Холлистер, Калифорния) в течение 20 минут при комнатной температуре (10 мкл 5X (50 мкМ) ATP на лунку). Реакции гасили с помощью 40 мМ EDTA/40 мМ EGTA по 25 мкл на лунку, и 15 мкл погашенной среды переносили в малообъемные планшеты ProxiPlate (PerkinElmer, Уолтем, Массачусетс) для выявления ADP. Продуцирование ADP выявляли с помощью анализа ADP2 Transcreener методом TR-FRET в красной области спектра (BellBrook Labs, Мэдисон, Висконсин) при конечной концентрации 4 нМ антитела ADP2 и 13,4 нМ ADP, меченного радиоактивным изотопом, в лунках (получали 4X раствор, и к погашенной кондиционированной среде добавляли 5 мкл "смеси реагентов для выявления"). Планшеты инкубировали с реагентами для выявления в течение 1 часа при комнатной температуре перед прочитыванием планшетов в режиме HTRF.

Сигнал HTRF (испускание при 620 нм и 665 нм) оценивали в обоих анализах с

использованием планшет-ридера Envision в режиме HTRF (Perkin Elmer, Уолтем, Массачусетс). Коэффициент HTRF определяли с помощью следующей формулы: Коэффициент HTRF=R=испускание при 665 нм/испускание при 620 нм × 10000. Затем определяли % остаточной активности и % ингибирования следующим образом: $\%\ Residual\ Activity = \frac{(R - R_{0\%})}{(R_{100\%} - R_{0\%})} * 100;\ \%\ Inhibition = 100 - \left[\frac{(R - R_{0\%})}{(R_{100\%} - R_{0\%})} * 100\right]$.

При этом $R_{0\%}$ представляет собой коэффициент HTRF для отрицательного контроля (0% активность фермента), а $R_{100\%}$ представляет собой коэффициент HTRF для положительного контроля (100% активность фермента). Данные анализировали в Microsoft Excel и представляли на графике с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 7.0, и значения IC_{50} получали с помощью (четырехпараметрического) анализа зависимости ответа от log (концентрации агониста) методом нелинейной регрессии с переменным угловым коэффициентом.

Иллюстративная активность Ab к ENTPD2 в биохимическом функциональном анализе ENTPD2 человека

Ab к ENTPD2, полученные в рамках мероприятий по гибридомной и фаг-дисплейной технологии, сортировали по функциональной активности в биохимическом анализе ENTPD2 человека. Иллюстративная активность Ab к ENTPD2 и их IC_{50} показаны на фиг. 15 и в таблице 28. Для ряда Ab наблюдался определенный спектр форм активности, при этом некоторые из них проявляли весьма сильную активность в анализе с субнаномолярной IC_{50} и полное ингибирование мишени, хотя другие при этом демонстрировали намного более слабую активность и лишь частичное ингибирование фермента (данные не показаны).

Таблица 28. Профили активности Ab к ENTPD2 в биохимическом функциональном анализе ENTPD2 человека in vitro

Антитело	Биохимический анализ ENTPD2 при 1 мкМ ATP, IC_{50} (нМ)
Антитело mAb1 к ENTPD2	0,52
Антитело mAb16 к ENTPD2	77,33
Антитело mAb17 к ENTPD2	0,27
Антитело mAb19 к ENTPD2	4,09
Антитело mAb20 к ENTPD2	17,49
Антитело mAb21 к ENTPD2	0,87

Активность Ab к ENTPD2 в клеточных функциональных анализах ENTPD2 человека и макака-крабоеда

При первоначальном профилировании Ab в биохимическом анализе ENPTD2 был идентифицирован ряд активных хитов с сильной ингибирующей активностью в отношении рекомбинантного внеклеточного домена ENTPD2, однако для подгруппы Ab

наблюдались неодинаковые профили поведения в биохимических и клеточных функциональных анализах, что позволяет предположить, что между очищенным рекомбинантным белком и нативной клеточной конформацией могут существовать конформационные отличия (данные не показаны). С целью подтверждения сильной активности Ab в отношении нативного ENTPD2 Ab к ENTPD2 профилировали по ингибирующей активности с использованием клеток NIH/3T3, сконструированных для экспрессии ENTPD2 человека или макака-крабоеда, или линии клеток RKO с эндогенной экспрессией ENTPD2. Сводные данные профилей активности Ab к ENTPD2 в различных анализах с использованием клеток NIH/3T3, экспрессирующих ENTPD2 человека или макака-крабоеда, или клеток RKO зафиксированы в таблице 29. Иллюстративные графики, на которых изображена сильная активность для подгруппы Ab к ENTPD2 во всех трех функциональных анализах, показаны на фиг. 16.

Таблица 29. Профили активности Ab, избирательно воздействующих на ENTPD2, в анализах с использованием клеток NIH/3T3, экспрессирующих ENTPD2 человека или макака-крабоеда, или клеток RKO in vitro

	ENTPD2 человека, анализ в NIH/3T3		Анализ в RKO		ENTPD2 макака-крабоеда, анализ в NIH/3T3	
Антитело	IC_{50} (нМ)	% ингибирования	IC_{50} (нМ)	% ингибирования	IC_{50} (нМ)	% ингибирования
Антитело mAb1 к ENTPD2	1,1	92	0,8	97	4,1	91
Антитело mAb2 к ENTPD2	1,4	98	0,8	86	2,7	84
Антитело mAb3 к ENTPD2	1,8	91	1,6	95	5,8	84
Антитело mAb4 к ENTPD2	0,2	87	0,2	74	2,2	75
Антитело mAb5 к ENTPD2	0,3	95	0,2	80	1,5	80
Антитело	0,3	95	0,2	90	3,3	73

mAb6 к ENTPD2						
Антитело mAb7 к ENTPD2	0,8	95	0,6	92	2,7	82
Антитело mAb8 к ENTPD2	0,1	97	0,2	95	0,9	96
Антитело mAb9 к ENTPD2	0,3	92	0,1	70	0,3	71
Антитело mAb10 к ENTPD2	0,4	88	0,2	77	0,5	86
Антитело mAb11 к ENTPD2	1,5	55				
Антитело mAb12 к ENTPD2	26,6	68				
Антитело mAb16 к ENTPD2	>133	30			>133	5
Антитело mAb17 к ENTPD2	0,6	98	0,5	96	1,0	91
Антитело mAb18 к ENTPD2	0,4	88			20	68

Пример 14. Структурно-управляемая инженерия позволила идентифицировать более активные суррогатные Ab к ENTPD2 мыши

Антитело mAb13 к ENTPD2 идентифицировали в качестве Ab, избирательно воздействующего на ENTPD2 мыши (EC_{50} составляет 3-4 нМ согласно FACS) при отсутствии связывания с ENTPD2 человека или макака-крабоеда. Активность антитела mAb13 к ENTPD2 оценивали с использованием линии клеток NIH3T3, сконструированной

для экспрессии ENTPD2 мыши, где антитело mAb13 к ENTPD2 проявляло активность в качестве частичного ингибитора фермента с IC_{50}, составляющей 2,8 нМ, и максимальным ингибированием мишени, составляющим 44%. При изучении кристаллической структуры комплекса Fab антитела mAb13 к ENTPD2/mENTPD2 и наложения аналога ATP-субстрата из rENTPD2 с кодом PDB 3CJA в активном центре mENTPD2 был выявлен T30 в CDR1 HC антитела mAb13 к ENTPD2 в качестве оптимального сайта, в котором согласно предсказанию замена более крупной аминокислотой будет приводить к стерическому блокированию связывания с ATP. Была сконструирована подгруппа конструкций с заменами в положении T30 CDR1 антитела mAb13 к ENTPD2, включающая антитела mAb14 и mAb15 к ENTPD2. Оценивание сконструированных вариантов антител mAb14 и mAb15 к ENTPD2 в функциональном анализе ENTPD2 мыши с использованием клеток NIH/3T3 продемонстрировало значительное улучшение ингибирования мишени по сравнению с исходным антителом mAb13 к ENTPD2 с достижением примерно 76-79% ингибирования ENTPD2 мыши при IC50, составляющей 5-6 нМ (таблица 30, фиг. 17).

Таблица 30. Профили активности Ab, избирательно воздействующих на ENTPD2 мыши, в клеточном функциональном анализе ENTPD2 мыши in vitro

Антитело	IC_{50} (нМ) в функциональном анализе ENTPD2	% ингибирования при 100 нМ (± среднеквадратическая ошибка)
Антитело mAb13 к ENTPD2	2,8	44 ± 7,3
Антитело mAb14 к ENTPD2	4,6	79 ± 2,2
Антитело mAb15 к ENTPD2	5,9	76 ± 3,4

Если не указано иное, то технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понятно специалисту, хорошо знакомому с областью техники, к которой относится настоящее изобретение.

Если не указано иное, все способы, стадии, методики и манипуляции, которые конкретно не описаны подробно, могут выполняться и выполняются широко известным способом, как будет ясно специалисту в данной области. Например, вновь делается ссылка на стандартные руководства и общий уровень техники, упоминаемый в данном документе, и на дополнительные литературные источники, цитируемые в данном документе. Если не указано иное, каждый из литературных источников, цитируемых в данном документе, включен во всей своей полноте посредством ссылки.

Пункты формулы изобретения являются неограничивающими и приведены ниже.

Хотя конкретные аспекты и пункты формулы изобретения были подробно раскрыты в данном документе, это было выполнено в качестве примера лишь в целях

иллюстрации и не предназначено для ограничений с точки зрения объема прилагаемой формулы изобретения или объема объекта формулы изобретения с любым соответствующим будущим применением. В частности, авторами настоящего изобретения предполагается, что различные замены, изменения и модификации могут быть выполнены по отношению к настоящему изобретению без отступления от сущности и объема настоящего изобретения, определенного формулой изобретения. Считается, что выбор исходного материала в виде нуклеиновой кислоты, клона, представляющего интерес, или типа библиотеки является привычным вопросом для специалиста обычной квалификации в данной области со знанием аспектов, описанных в данном документе. Считается, что другие аспекты, преимущества и модификации находятся в пределах объема нижеследующей формулы изобретения. Специалистам в данной области будут понятны многие эквиваленты конкретных аспектов настоящего изобретения, описанного в данном документе, или с помощью проведения только лишь обычных экспериментов они будут способны установить такие эквиваленты. Предполагается, что такие эквиваленты охватываются нижеследующей формулой изобретения. Изменение формулировки объема пункта формулы изобретения в позднее поданных соответствующих заявках может быть связано с ограничениями патентных законов различных стран и не должно пониматься как отказ от объекта формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связываются с белком ENTPD2 человека, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат область 1, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR1), область 2, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR2), область 3, определяющую комплементарность, тяжелой цепи (HCDR3), область 1, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR1), область 2, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR2) и область 3, определяющую комплементарность, легкой цепи (LCDR3) из любого антитела или антигенсвязывающего фрагмента, приведенных в таблице 1.

2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, где HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 выбраны из последовательностей HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, приведенных в таблице 1.

3. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, приведенную в таблице 1.

4. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи, приведенную в таблице 1.

5. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из любого из следующих:

1) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 1,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 2,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 3,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 14,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 15, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;

2) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 4,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 5,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 3,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 19;

3) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 7,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 8,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 9,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,

последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
4) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 38,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 50,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
5) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 41,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 53,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
6) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 44,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 45,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 56,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
7) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 38,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 61,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
8) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 41,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 39,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 62,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
9) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 44,

последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 45,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 63,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
10) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 38,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 50,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
11) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 41,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 53,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
12) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 44,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 69,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 56,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
13) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 82,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 83,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 84,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 95,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 96, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 97;
14) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 85,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 86,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 84,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 98,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 100;
15) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:

последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 88,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 89,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 90,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 101,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 97;
16) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 106,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 107,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 119,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 120, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
17) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 109,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 110,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 122,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 123;
18) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 112,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 113,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 114,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 124,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
19) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 106,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 129,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 119,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 120, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
20) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 109,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 130,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 108,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 122,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и

последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 123;
21) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 112,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 131,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 114,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 124,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 99, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 121;
22) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 136,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 137,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 138,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 149,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 150, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 151;
23) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 139,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 140,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 138,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 152,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 154;
24) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 142,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 143,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 144,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 155,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 151;
25) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 160,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 161,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 162,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 173,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 150, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 174;
26) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 163,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 164,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 162,

последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 175,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 176;
27) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 166,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 167,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 168,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 177,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 153, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 174;
28) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 220,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 221,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 61,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
29) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 222,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 221,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 62,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
30) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 223,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 224,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 63,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
31) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 37,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 220,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 61,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 51, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
32) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 40,

последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 222,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 68,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 62,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 55;
33) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 43,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 223,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 69,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 63,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 54, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 52;
34) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 1,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 245,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 246,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 254,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 15, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 255;
35) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 4,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 247,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 246,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 256;
36) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 7,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 248,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 249,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 255;
37) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 1,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 261,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 262,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 254,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 15, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;

38) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 4,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 247,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 262,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 19;
39) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 7,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 248,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 263,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
40) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 272,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 273,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 274,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 254,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 285, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16;
41) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 275,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 276,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 274,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 286, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 19;
42) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих:
последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 278,
последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 279,
последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 280,
последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,
последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 286, и
последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16.

6. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-5, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из любого из следующих:

1) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую SEQ ID NO: 10 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и вариабельную область

легкой цепи (VL), содержащую SEQ ID NO: 21 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

2) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 25 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 29 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

3) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 33 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 29 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

4) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 46 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 57 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

5) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 46 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 64 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

6) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 70 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 74 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

7) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 25 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 78 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

8) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 91 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 102 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

9) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 115 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 125 или

последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

10) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 132 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 125 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

11) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 145 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 156 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

12) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 169 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 178 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

13) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 225 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 229 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

14) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 233 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 237 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

15) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 241 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 229 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

16) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 250 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 257 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

17) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 264 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 268 или

последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей; или

18) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VH, содержащую SEQ ID NO: 281 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и VL, содержащую SEQ ID NO: 287 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей.

7. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из любого из следующих:

1) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 12 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 23 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

2) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 31 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

3) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 35 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 31 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

4) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 48 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 59 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

5) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 48 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 66 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

6) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 72 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 76 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

7) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 80 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

8) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 93 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 104 или последовательность, на по меньшей

мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

9) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 117 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 127 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

10) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 134 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 127 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

11) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 147 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 158 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

12) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 171 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 180 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

13) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 227 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 231 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

14) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 235 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 239 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

15) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 243 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 231 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

16) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 252 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 259 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей;

17) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 266 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 270 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей; или

18) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 283 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 289 или последовательность, на по меньшей

мере приблизительно 95% или больше идентичную ей.

8. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат:

последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 1,

последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 2,

последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 3,

последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 14,

последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 15, и

последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16.

9. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат:

последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 4,

последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 5,

последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 3,

последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 17,

последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и

последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 19.

10. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат:

последовательность HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 7,

последовательность HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 8,

последовательность HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 9,

последовательность LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 20,

последовательность LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 18, и

последовательность LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 16.

11. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую SEQ ID NO: 10 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую SEQ ID NO: 21 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей.

12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат SEQ ID NO: 12 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 23 или последовательность, на по меньшей мере приблизительно 95% или больше идентичную ей.

13. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-12, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один из следующих остатков: His50, Asp76, Pro78, Gly79, Gly80, Tyr85, Asp87, Asn88, Gly91, Gln94, Ser95, Gly98, Glu101,

Gln102, Gln105, Asp106, Arg245, Thr272, Gln273, Leu275, Asp278, Arg298, Ala347, Ala350, Thr351, Arg392, Ala393, Arg394 или Tyr398.

14. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-12, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один из следующих остатков: Gly79, Gln250, Leu253, Trp266, Arg268, Gly269, Phe270, Ser271, Thr272, Gln273, Val274, Leu275, Asp278, Arg298, Ser300, Ser302, Gly303, Thr380, Trp381, Ala382, Gly390, Gln391, Arg392, Ala393, Arg394 или Asp397.

15. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один из следующих остатков: His50, Asp76, Pro78, Gly79, Gly80, Tyr85, Asp87, Asn88, Gly91, Gln94, Ser95, Gly98, Glu101, Gln102, Gln105, Asp106, Arg245, Thr272, Gln273, Leu275, Asp278, Arg298, Ala347, Ala350, Thr351, Arg392, Ala393, Arg394 или Tyr398.

16. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связываются с эпитопом в ENTPD2 человека, где эпитоп содержит по меньшей мере один из следующих остатков: Gly79, Gln250, Leu253, Trp266, Arg268, Gly269, Phe270, Ser271, Thr272, Gln273, Val274, Leu275, Asp278, Arg298, Ser300, Ser302, Gly303, Thr380, Trp381, Ala382, Gly390, Gln391, Arg392, Ala393, Arg394 или Asp397.

17. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые конкурируют с любым антителом или антигенсвязывающим фрагментом, приведенными в таблице 1, за связывание с белком ENTPD2 человека.

18. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с тем же эпитопом, по существу тем же эпитопом, что и любое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, приведенные в таблице 1, с эпитопом, перекрывающимся с данным эпитопом, или эпитопом, по существу перекрывающимся с ним.

19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-18, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее 10 нМ, например, согласно измерению с помощью Biacore.

20. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-18, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее 5 нМ, например, согласно измерению с помощью Biacore.

21. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-18, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с белком ENTPD2 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее 3 нМ, например, согласно измерению с помощью Biacore.

22. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-21, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент ингибируют ферментативную активность ENTPD2 человека на по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по

меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90%.

23. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-22, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент ингибируют способность ENTPD2 к гидролизу аденозинтрифосфата (ATP).

24. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-23, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент препятствуют связыванию ATP с ENTPD2 или удерживают ATP в каталитическом домене ENTPD2.

25. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-24, где антитело относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

26. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-25, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат Fc-область, выбранную из Fc-области IgG1, Fc-области IgG2, Fc-области IgG4 или гибридной Fc-области IgG2/IgG4.

27. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-26, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат модифицированную Fc-область, которая характеризуется сниженной активностью антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) или комплементзависимой цитотоксичности (CDC) по сравнению с исходным антителом.

28. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-27, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой человеческое или гуманизированное антитело или его фрагмент.

29. Нуклеиновая кислота или набор нуклеиновых кислот, кодирующие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28.

30. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот по п. 29.

31. Вектор по п. 30, где вектор выбран из ДНК-вектора, РНК-вектора, плазмиды, космиды или вирусного вектора.

32. Вектор по п. 31, где вектор представляет собой вирусный вектор на основе любого из следующих вирусов: лентивируса, аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV), вируса простого герпеса (HSV), парвовируса, ретровируса, вируса осповакцины, вируса Синдбис, вируса гриппа, реовируса, вируса ньюкаслской болезни (NDV), вируса кори, вируса везикулярного стоматита (VSV), полиовируса, поксвируса, вируса Сенека-Валли, вируса Коксаки, энтеровируса, вируса миксомы или вируса Мараба.

33. Вектор по п. 32, где вектор представляет собой вектор на основе AAV.

34. Вектор по п. 31, где вектор представляет собой лентивирусный вектор.

35. Вектор по любому из пп. 30-34, дополнительно содержащий промотор.

36. Вектор по любому из пп. 30-35, дополнительно содержащий выявляемый маркер.

37. Клетка, содержащая нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот по п. 29 или вектор по любому из пп. 30-36.

38. Способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом способ включает культивирование клетки по п. 37 и сбор антитела или его антигенсвязывающего фрагмента из культуральной среды.

39. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28, нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот по п. 29, вектор по любому из пп. 30-36 или клетку по п. 37 и фармацевтически приемлемый носитель.

40. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28, нуклеиновая кислота или набор нуклеиновых кислот по п. 29, вектор по любому из пп. 30-36, клетка по п. 37 или фармацевтическая композиция по п. 39 для применения в качестве лекарственного препарата.

41. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28, нуклеиновая кислота по п. 29, вектор по любому из пп. 30-36, клетка по п. 37 или фармацевтическая композиция по п. 39 для применения в лечении рака.

42. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-28, нуклеиновой кислоты по п. 29, вектора по любому из пп. 30-36, клетки по п. 37 или фармацевтической композиции по п. 39 в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

43. Антитело для применения по п. 41 или применение по п. 42, где рак представляет собой ENTPD2+ рак.

44. Антитело для применения по п. 41 или применение по п. 42, где рак представляет собой рак ободочной и прямой кишки (CRC), рак желудка (например, аденокарциному желудка, карциному желудка), рак пищевода (например, плоскоклеточную карциному пищевода (ESCC)), рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), рак молочной железы (например, аденокарциному молочной железы) или рак яичника.

45. Антитело для применения по п. 41 или применение по п. 42, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновая кислота или набор нуклеиновых кислот, вектор, клетка или фармацевтическая композиция вводятся субъекту посредством внутривенного, внутриопухолевого или подкожного путей.

46. Антитело для применения по п. 41 или применение по п. 42, где молекула антитела вводится в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим средством или процедурой.

47. Антитело для применения по п. 46 или применение по п. 46, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство или процедура выбраны из одного или нескольких из химиотерапии, таргетной противораковой терапии, онколитического лекарственного средства, цитотоксического средства, иммунотерапии, цитокина, хирургической процедуры, процедуры облучения, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибирующей молекулы, вакцины или клеточной терапии.

48. Антитело для применения по п. 46 или применение по п. 46, где по меньшей

мере одно дополнительное терапевтическое средство является ингибитором PD-1, например, антителом к PD-1.

49. Антитело для применения по п. 48 или применение по п. 48, где ингибитор PD-1 выбран из PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 или AMP-224.

50. Антитело для применения по п. 46 или применение по п. 46, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является ингибитором PD-L1, например, антителом к PD-L1.

51. Антитело для применения по п. 50 или применение по п. 50, где ингибитор PD-L1 выбран из FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба или BMS-936559.

52. Антитело для применения по пп. 46-51 или применение по пп. 46-51, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является антагонистом A2AR, где антагонист A2AR выбран из:

i. молекулы антитела к CD73 или ее антигенсвязывающего фрагмента, где антитело к CD73 необязательно выбрано из:

a. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 295, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 296, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 295 или 296;

b. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 299, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 300, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 299 или 300;

c. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 302, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 303, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 302 или 303;

d. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 304, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 305, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 304 или 305;

e. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 306, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 307, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 306 или 307; или

f. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 308, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 309, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 308 или 309; или

ii. PBF509/NIR178, CPI444/V81444, AZD4635/HTL-1071, випаденанта, GBV-2034, AB928, теофиллина, истрадефиллина, тозаденанта/SYN-115, KW-6356, ST-4206 и преладенанта/SCH-420814; или

iii. 5-бром-2,6-ди-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амина или его фармацевтически приемлемой соли; (S)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина или его фармацевтически приемлемой соли; (R)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина, или его рацемата, или его фармацевтически приемлемой соли; 7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина или его фармацевтически приемлемой соли и 6-(2-хлор-6-метилпиридин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амина или его фармацевтически приемлемой соли.

53. Антитело для применения по п. 46 или применение по п. 46, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство выбрано из:

i. ингибитора CTLA-4, где ингибитор CTLA-4 необязательно выбран из ипилимумаба или тремелимумаба;

ii. ингибитора TIM-3, где ингибитор TIM-3 необязательно выбран из MBG453, TSR-022 или LY3321367;

iii. ингибитора LAG-3, где ингибитор LAG-3 необязательно выбран из LAG525, BMS-986016, TSR-033, MK-4280 или REGN3767;

iv. агониста GITR, где агонист GITR необязательно выбран из GWN323, BMS-986156, MK-4166, MK-1248, TRX518, INCAGN1876, AMG 228 или INBRX-110;

v. молекулы полиспецифического антитела к CD3, где молекула полиспецифического антитела к CD3 необязательно представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3 и CD123 (например, XENP14045) или молекулу биспецифического антитела к CD3 и CD20 (например, XENP13676);

vi. молекулы цитокина, где молекула цитокина необязательно представляет собой IL-15 в комплексе с растворимой формой альфа-субъединицы рецептора IL-15 (IL-15Ra);

vii. ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), где ингибитор M-CSF необязательно представляет собой MCS110;

viii. ингибитора CSF-1R, где ингибитор CSF-1R необязательно представляет собой BLZ945;

ix. ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO);

x. ингибитора TGF-β;

xi. онколитического вируса;

xii. средства терапии на основе Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR).

54. Антитело для применения по п. 46 или применение по п. 46, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство выбрано из: 1) ингибитора протеинкиназы С (PKC); 2) ингибитора белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитора цитохрома P450 (например, ингибитора CYP17 или ингибитора 17-альфа-гидроксилазы/С17-20-лиазы); 5) железохелатирующего средства; 6) ингибитора ароматазы; 7) ингибитора p53, например, ингибитора взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктора апоптоза; 9) ингибитора ангиогенеза; 10) ингибитора альдостеронсинтазы; 11) ингибитора рецептора Smoothened (SMO); 12) ингибитора рецептора пролактина (PRLR); 13) ингибитора сигнального пути Wnt; 14) ингибитора CDK4/6; 15) ингибитора рецептора 2 фактора роста фибробластов (FGFR2)/рецептора 4 фактора роста фибробластов (FGFR4); 16) ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитора одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитора одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, c-KIT или Raf-киназы С; 19) агониста соматостатина и/или ингибитора высвобождения гормона роста; 20) ингибитора киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитора рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитора P-гликопротеина 1; 23) ингибитора рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR); 24) ингибитора киназы BCR-ABL; 25) ингибитора FGFR; 26) ингибитора CYP11B2; 27) ингибитора HDM2, например, ингибитора взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитора тирозинкиназы; 29) ингибитора c-MET; 30) ингибитора JAK; 31) ингибитора DAC; 32) ингибитора 11β-гидроксилазы; 33) ингибитора IAP; 34) ингибитора PIM-киназы; 35) ингибитора поркупина; 36) ингибитора BRAF, например, BRAF V600E или BRAF дикого типа; 37) ингибитора HER3; 38) ингибитора MEK; 39) ингибитора липидкиназы или одного или нескольких средств, приведенных в таблице 16.

55. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-28, нуклеиновой кислоты по п. 29, вектора по любому из пп. 30-36, клетки по п. 37 или фармацевтической композиции по п. 39.

56. Способ по п. 55, где рак представляет собой ENTPD2+ рак.

57. Способ по п. 55, где рак представляет собой рак ободочной и прямой кишки (CRC), рак желудка (например, аденокарциному желудка, карциному желудка), рак пищевода (например, плоскоклеточную карциному пищевода (ESCC)), рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), рак молочной железы (например,

аденокарциному молочной железы) или рак яичника.

58. Способ по любому из пп. 55-57, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот, вектор, клетку или фармацевтическую композицию вводят субъекту посредством внутривенного, внутриопухолевого или подкожного путей.

59. Способ стимуляции иммунного ответа у субъекта, при этом способ включает введение субъекту антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-28, нуклеиновой кислоты или набора нуклеиновых кислот по п. 29, вектора по любому из пп. 30-36, клетки по п. 37 или фармацевтической композиции по п. 39 в количестве, эффективном для стимуляции иммунного ответа.

60. Способ по любому из пп. 55-59, дополнительно включающий применение в отношении субъекта по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства или процедуры.

61. Способ по п. 60, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство или процедура выбраны из одного или нескольких из химиотерапии, таргетной противораковой терапии, онколитического лекарственного средства, цитотоксического средства, иммунотерапии, цитокина, хирургической процедуры, процедуры облучения, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибирующей молекулы, вакцины или клеточной терапии.

62. Способ по п. 60, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является ингибитором PD-1, например, антителом к PD-1.

63. Способ по п. 62, где ингибитор PD-1 выбран из PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 или AMP-224.

64. Способ по п. 60, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является ингибитором PD-L1, например, антителом к PD-L1.

65. Способ по п. 64, где ингибитор PD-L1 выбран из FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба или BMS-936559.

66. Способ по п. 60, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство является антагонистом A2AR, где антагонист A2AR выбран из:

i. молекулы антитела к CD73 или ее антигенсвязывающего фрагмента, где антитело к CD73 необязательно выбрано из:

a. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 295, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 296, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 295 или 296;

b. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 299, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:

300, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 299 или 300;

c. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 302, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 303, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 302 или 303;

d. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 304, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 305, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 304 или 305;

e. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 306, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 307, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 306 или 307; или

f. молекулы антитела к CD73, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 308, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 309, или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95% или больше идентичную по отношению к SEQ ID NO: 308 или 309; или

ii. PBF509/NIR178, CPI444/V81444, AZD4635/HTL-1071, випаденанта, GBV-2034, AB928, теофиллина, истрадефиллина, тозаденанта/SYN-115, KW-6356, ST-4206 и преладенанта/SCH-420814; или

iii. 5-бром-2,6-ди-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амина или его фармацевтически приемлемой соли; (S)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина или его фармацевтически приемлемой соли; (R)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина, или его рацемата, или его фармацевтически приемлемой соли; 7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амина или его фармацевтически приемлемой соли и 6-(2-хлор-6-метилпиридин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амина или его фармацевтически приемлемой соли.

67. Способ по п. 60, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство выбрано из:

i. ингибитора CTLA-4, где ингибитор CTLA-4 необязательно выбран из ипилимумаба или тремелимумаба;

ii. ингибитора TIM-3, где ингибитор TIM-3 необязательно выбран из MBG453,

TSR-022 или LY3321367;

iii. ингибитора LAG-3, где ингибитор LAG-3 необязательно выбран из LAG525, BMS-986016, TSR-033, MK-4280 или REGN3767;

iv. агониста GITR, где агонист GITR необязательно выбран из GWN323, BMS-986156, MK-4166, MK-1248, TRX518, INCAGN1876, AMG 228 или INBRX-110;

v. молекулы полиспецифического антитела к CD3, где молекула полиспецифического антитела к CD3 необязательно представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3 и CD123 (например, XENP14045) или молекулу биспецифического антитела к CD3 и CD20 (например, XENP13676);

vi. молекулы цитокина, где молекула цитокина необязательно представляет собой IL-15 в комплексе с растворимой формой альфа-субъединицы рецептора IL-15 (IL-15Ra);

vii. ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), где ингибитор M-CSF необязательно представляет собой MCS110;

viii. ингибитора CSF-1R, где ингибитор CSF-1R необязательно представляет собой BLZ945;

ix. ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO);

x. ингибитора TGF-β;

xi. онколитического вируса;

xii. средства терапии на основе Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR).

68. Способ по п. 60, где по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство выбрано из: 1) ингибитора протеинкиназы С (PKC); 2) ингибитора белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитора цитохрома P450 (например, ингибитора CYP17 или ингибитора 17-альфа-гидроксилазы/C17-20-лиазы); 5) железохелатирующего средства; 6) ингибитора ароматазы; 7) ингибитора p53, например, ингибитора взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктора апоптоза; 9) ингибитора ангиогенеза; 10) ингибитора альдостеронсинтазы; 11) ингибитора рецептора Smoothened (SMO); 12) ингибитора рецептора пролактина (PRLR); 13) ингибитора сигнального пути Wnt; 14) ингибитора CDK4/6; 15) ингибитора рецептора 2 фактора роста фибробластов (FGFR2)/рецептора 4 фактора роста фибробластов (FGFR4); 16) ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитора одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитора одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, c-KIT или Raf-киназы С; 19) агониста соматостатина и/или ингибитора высвобождения гормона роста; 20) ингибитора киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитора рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитора P-гликопротеина 1; 23) ингибитора рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR); 24) ингибитора киназы BCR-ABL; 25) ингибитора FGFR; 26) ингибитора CYP11B2; 27) ингибитора HDM2,

например, ингибитора взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитора тирозинкиназы; 29) ингибитора c-MET; 30) ингибитора JAK; 31) ингибитора DAC; 32) ингибитора 11β-гидроксилазы; 33) ингибитора IAP; 34) ингибитора PIM-киназы; 35) ингибитора поркупина; 36) ингибитора BRAF, например, BRAF V600E или BRAF дикого типа; 37) ингибитора HER3; 38) ингибитора MEK; 39) ингибитора липидкиназы или одного или нескольких средств, приведенных в таблице 16.

69. Способ по п. 60, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-24, нуклеиновую кислоту или набор нуклеиновых кислот по п. 25, вектор по любому из пп. 26-32, клетку по п. 33 или фармацевтическую композицию по п. 35 вводят параллельно с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим средством, до него или после него.

70. Способ по любому из пп. 55-69, где введение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, нуклеиновой кислоты или набора нуклеиновых кислот, вектора, клетки или фармацевтической композиции обеспечивает один или несколько из следующих эффектов:

(a) увеличение количества CD45+ CD4- CD8+ CD69+ CD25+ клеток в очаге опухоли или поражения у субъекта;

(b) увеличение количества CD45+ CD8- CD4+ FOXP3- CD69+ CD25+ клеток в очаге опухоли или поражения у субъекта;

(c) уменьшение уровня MCP1 или IL-1β в плазме крови субъекта или

(d) увеличение уровня MCP1 в очаге опухоли или поражения у субъекта.

71. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-28 в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1.

72. Способ стимуляции иммунного ответа у субъекта, при этом способ включает введение субъекту антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-28 в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1.

73. Композиция, содержащая антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28, для применения в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1, в лечении рака у субъекта.

74. Композиция для применения в лечении рака у субъекта, где композиция содержит антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28, в комбинации со вторым терапевтическим средством, выбранным из ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1.

75. Способ по п. 71 или п. 72 или композиция по п. 73 или п. 74, где второе терапевтическое средство является ингибитором PD-1.

76. Способ по п. 71 или п. 72 или композиция по п. 73 или п. 74, где ингибитор PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

77. Способ по п. 71 или п. 72 или композиция по п. 73 или п. 74, где ингибитор PD-1 выбран из PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 или AMP-224.

78. Способ по п. 71 или п. 72 или композиция по п. 73 или п. 74, где второе терапевтическое средство является ингибитором PD-L1.

79. Способ по п. 71 или п. 72 или композиция по п. 73 или п. 74, где ингибитор PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1.

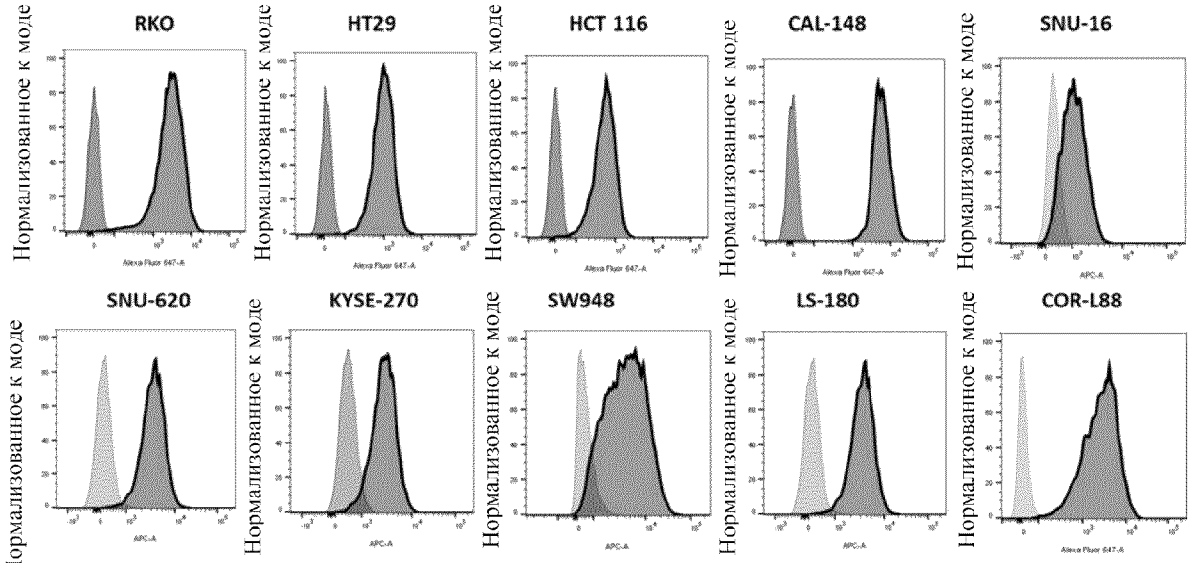
80. Способ по п. 71 или п. 72 или композиция по п. 73 или п. 74, где ингибитор PD-L1 выбран из FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба или BMS-936559.

81. Способ по п. 71 или композиция по п. 73 или п. 74, где рак представляет собой ENTPD2+ рак.

82. Способ по п. 71 или композиция по п. 73 или п. 74, где рак представляет собой рак ободочной и прямой кишки (CRC), рак желудка (например, аденокарциному желудка, карциному желудка), рак пищевода (например, плоскоклеточную карциному пищевода (ESCC)), рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), рак молочной железы (например, аденокарциному молочной железы) или рак яичника.

По доверенности

ФИГ. 1А



Антитело mAb1 к ENTPD2 + антитело к hIgG, конъюгированное с Alexa Fluor 647, или вторичное Ab, конъюгированное с APC

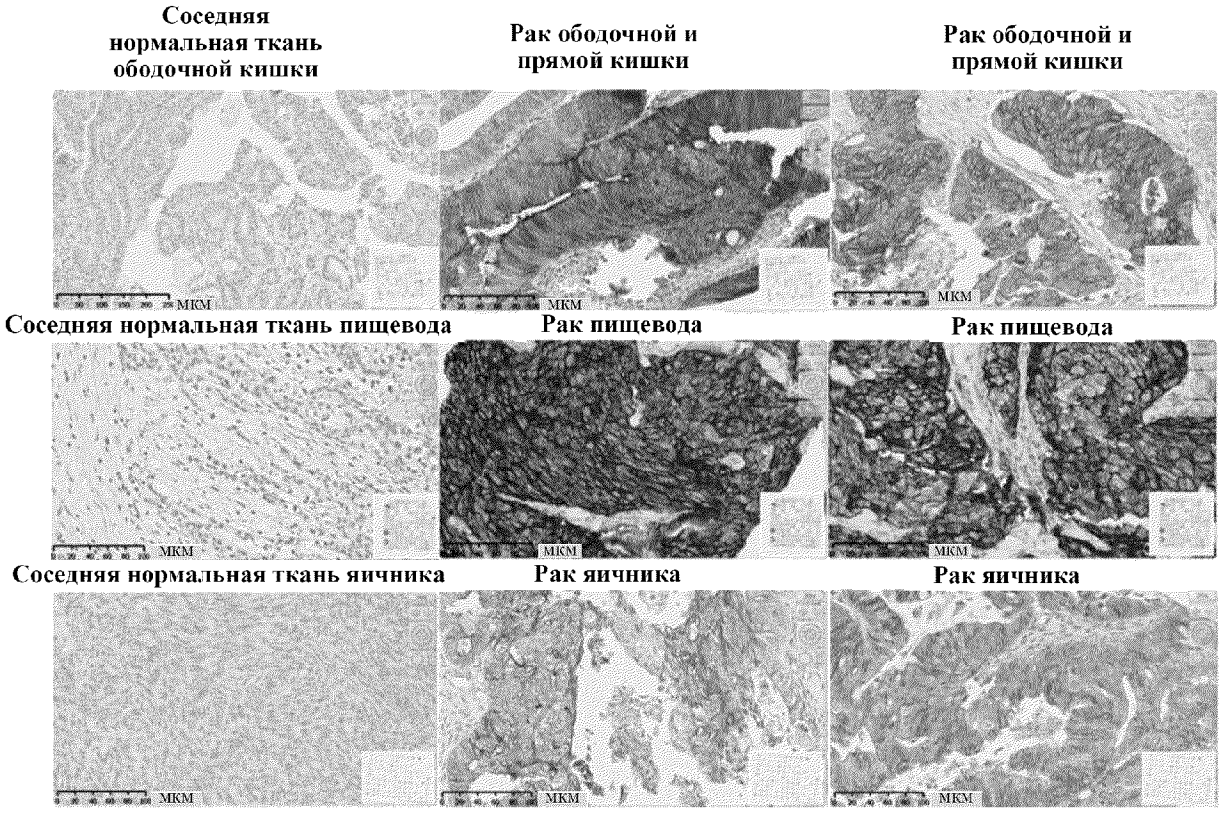
Антитело к IgG человека, конъюгированное с Alexa Fluor 647, или вторичное Ab, конъюгированное с APC, в отдельности

ФИГ. 1В

Таблица 20. Плотность экспрессии ENTPD2 в различных иллюстративных линиях раковых клеток

Линия клеток	Источник	Показание	Плотность рецепторов
CAL-148	DSMZ (Германия)	Аденокарцинома молочной железы	111726
COR-L88	ECACC (Велико-британия)	Мелкоклеточный рак легкого	90000
RKO	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	51203
LS-180	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	44708
SW948	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	41576
HT29	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	28337
KYSE-270	DSMZ (Германия)	Рак пищевода	28273
SNU-620	KCLB (Южная Корея)	Аденокарцинома желудка	19646
HCT 116	ATCC (Манассас, Виргиния)	Рак ободочной и прямой кишки	18697
SNU-16	ATCC (Манассас, Виргиния)	Карцинома желудка	12763

ФИГ. 2


Соседняя нормальная ткань ободочной кишки
Рак ободочной и прямой кишки
Рак ободочной и прямой кишки
МКМ
Соседняя нормальная ткань пищевода
Рак пищевода
Рак пищевода
МКМ
Соседняя нормальная ткань яичника
Рак яичника
Рак яичника
МКМ

ФИГ. 3А

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи FAb22 антитела к ENTPD2 человека (SEQ ID NO: 330)

EVKLEQSGPGLVKPSQSLSLTCSVT**GYSIT**<u>**SGYYWN**</u>WIRQFPGNKLEWMS<u>**YISYDGDNNYNPSLKN**</u>RISITRDTSKNQFF
LKLSSVTTEDTATYYCAG<u>**GYYRYGLSYYYVMDY**</u>WGQGTSVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC

Аминокислотная последовательность легкой цепи FAb22 антитела к ENTPD2 человека (SEQ ID NO: 334)

DIKMTQSPASLAVSLGQRATISC<u>**KASQSVDYDGNSYMN**</u>WYQQKPGQPPKLLIY<u>**AASNLES**</u>GIPARFSGSGSGTDFTLNIH
PVEEEDAATYYC<u>**QQSNEDPPT**</u>FGGGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

ФИГ. 3B

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи FAb23 антитела к ENTPD2 человека (SEQ ID NO: 336)

EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKAS**GYTFTDYNMD**WVKQSHGKSLEWIG**DINPKYDISTYNQQFKG**KATLTVDKSSSTAY
MELRSLTSEDTAVYYCAR**RGFFLYYGINYYYFDV**WGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC

Аминокислотная последовательность легкой цепи FAb23 антитела к ENTPD2 человека (SEQ ID NO: 239)

QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTC**SASSSVSYIH**WYQQKSGTSPTLLIY**STSNLAS**GVPSRFSGSGSGTFYSLTISSVEAE
DAADYYC**HQWSSYPWT**FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

ФИГ. 3C

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи FAb24 антитела к ENTPD2 мыши (SEQ ID NO: 338)

QVQLVQSGAELKQPGQSVKISCKASGYTFT**HYGMN**WVKQAPGQGLKWMG**WINTDTGNPTYADDFKG**RFVFSLDTSVSTAY

LQISNLKNEDTATYYCVR**YGTLYSGYGFFFDS**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV

TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC

Аминокислотная последовательность легкой цепи FAb24 антитела к ENTPD2 мыши (SEQ ID NO: 340)

DIMMTQSPSSLSVSAGEKATITC**KSSQSLFNSNTNKNYLN**WYLQKPGQSPKLLFY**YASTRHT**GVPDRFIGSGSGTDFTLT

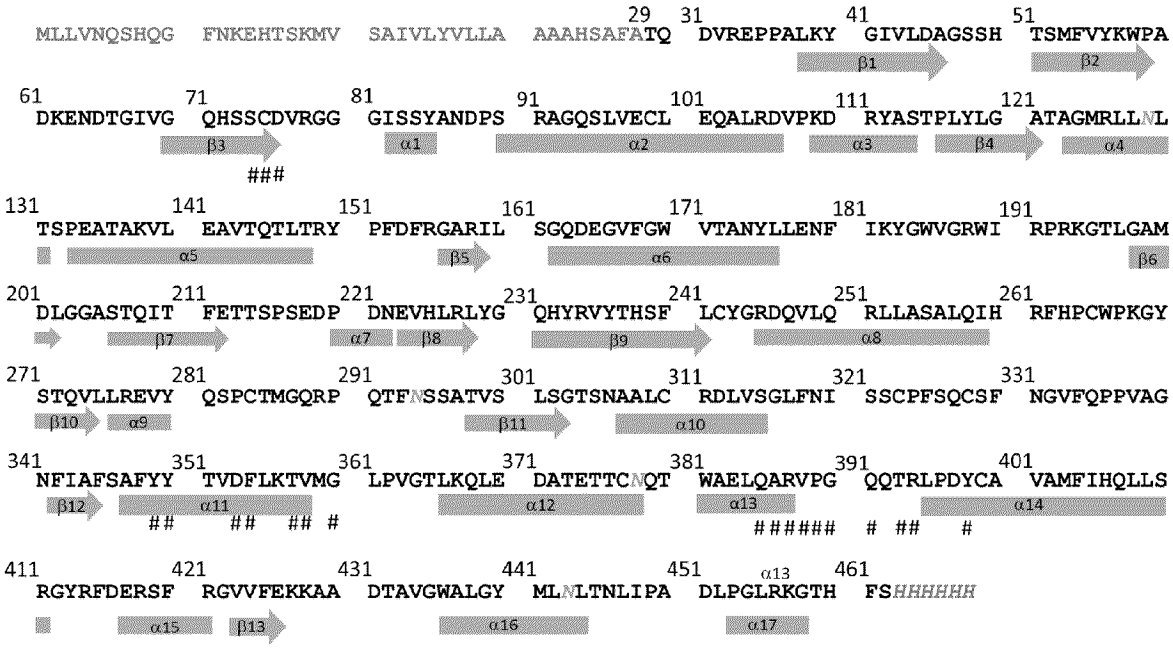
ITSVQDEDLADYYC**QQWYSYPWT**FGPGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL

QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

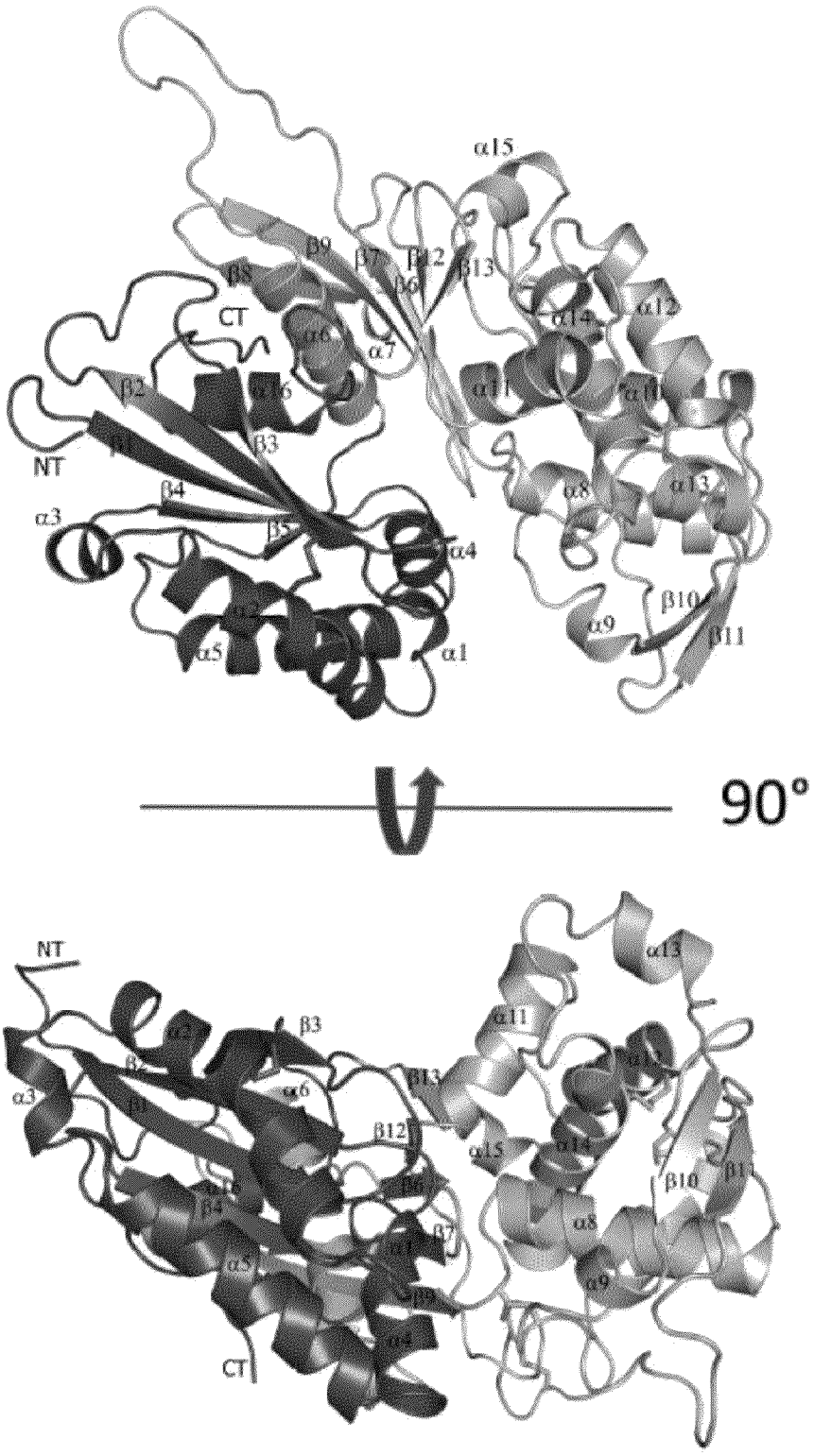
ФИГ. 4А

MLLVNQSHQG FNKEHTSKMV SAIVLYVLLA AAAHSAFATR DVREPPALKY GIVLDAGSSH TSMFIYKWPA
β1 β2
DKENDTGIVG QHSSCDVPGG GISSYADNPS GASQSLVGCL EQALQDVPKE RHAGTPLYLG ATAGMRLLNL
β3 α1 α2 α3 β4 α4
TNPEASTSVL MAVTHTLTQY PFDFRGARIL SGQEEGVFGW VTANYLLENF IKYGWVGRWF RPRKGTLGAM
α5 β5 α6 β6
DLGGASTQIT FETTSPAEDR ASEVQLHLYG QHYRVYTHSF LCYGRDQVLQ RLLASALQTH GFHPCWPRGF
β7 α7 β8 β9 α8
STQVLLGDVY QSPCTMAQRP QNFNSSARVS LSGSSDPHLC RDLVSGLFSF SSCPFSRCSF NGVFQPPVAG
β10 α9 β11 α10
NFVAFSAFFA TVDFLRTSMG LPVATLQQLE AAAVNVCNQT WAQLQARVPG QRARLADYCA GAMFVQQLLS
β12 α11 α12 α13 α14
RGYGFDERAF GGVIFQKKAA DTAVGWALGY MLNLTNLIPA DPPGLRKGTD FSHHHHHH
α15 β13 α16 α17

ФИГ. 4B

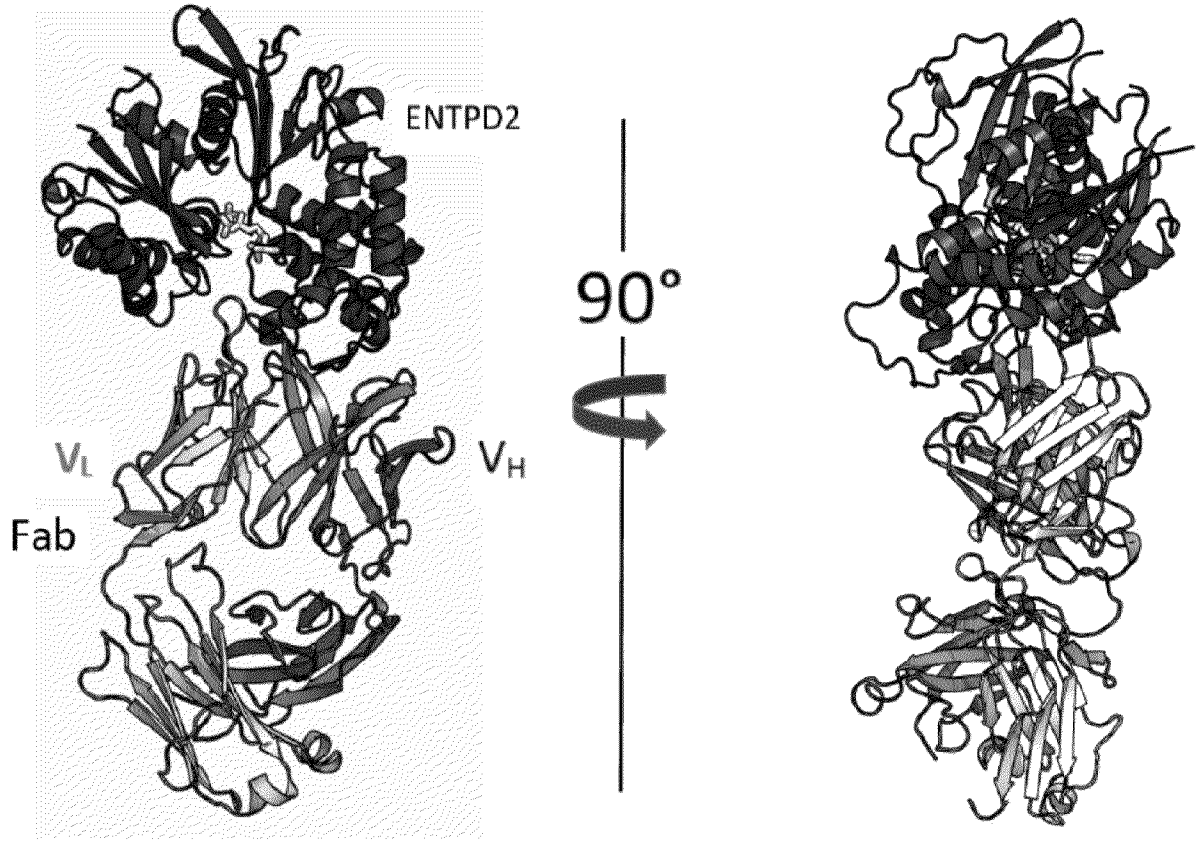

MLLVNQSHQG FNKEHTSKMV SAIVLYVLLA AAAHSAFATQ DVREPPALKY GIVLDAGSSH TSMFVYKWPA
β1 β2
DKENDTGIVG QHSSCDVRGG GISSYANDPS RAGQSLVECL EQALRDVPKD RYASTPLYLG ATAGMRLLNL
β3 α1 α2 α3 β4 α4
###
TSPEATAKVL EAVTQTLTRY PFDFRGARIL SGQDEGVFGW VTANYLLENF IKYGWVGRWI RPRKGTLGAM
α5 β5 α6 β6
DLGGASTQIT FETTSPSEDP DNEVHLRLYG QHYRVYTHSF LCYGRDQVLQ RLLASALQIH RFHPCWPKGY
β7 α7 β8 β9 α8
STQVLLREVY QSPCTMGQRP QTFNSSATVS LSGTSNAALC RDLVSGLFNI SSCPFSQCSF NGVFQPPVAG
β10 α9 β11 α10
NFIAFSAFYY TVDFLKTVMG LPVGTLKQLE DATETTCNQT WAELQARVPG QQTRLPDYCA VAMFIHQLLS
β12 α11 α12 α13 α14
#
RGYRFDERSF RGVVFEKKAA DTAVGWALGY MLNLTNLIPA DLPGLRKGTH FSHHHHHH
α13
α15 β13 α16 α17

ФИГ. 5А

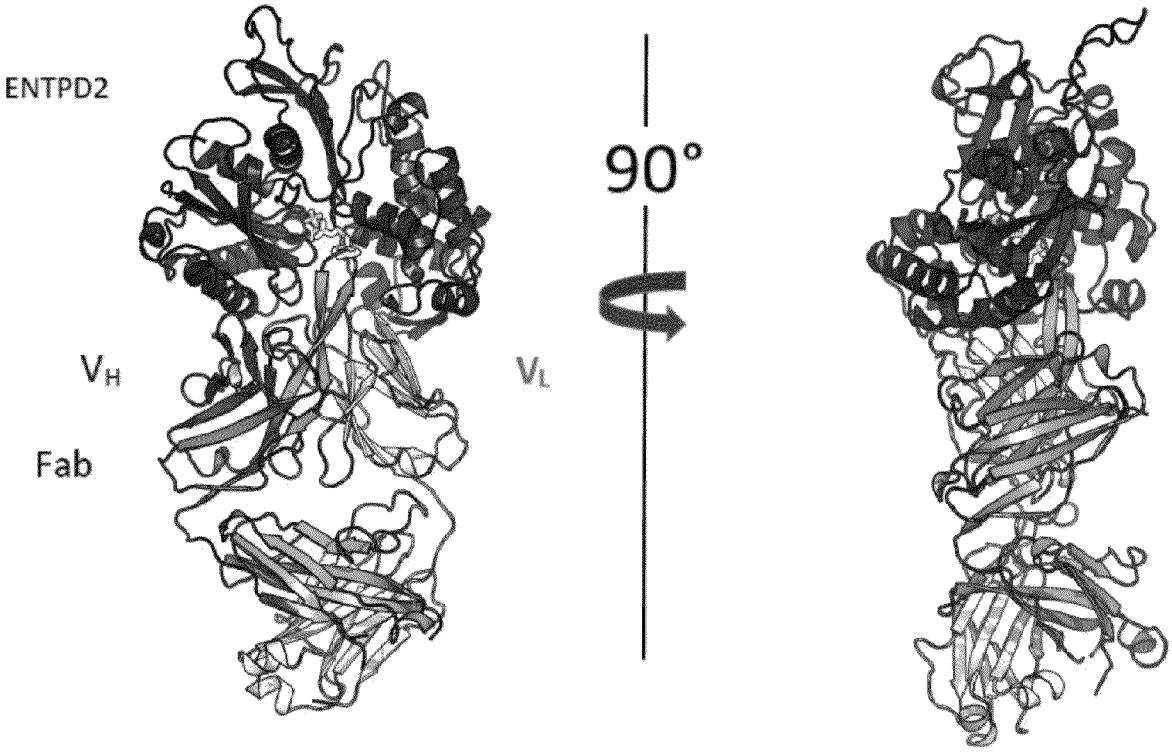

α15
β9
β7
β12
β13
β8
β6
CT
α14
α12
α6
α7
β2
α16
α11
α10
β3
NT
β1
β4
α8
α13
α3
β5
α4
β10
α9
β11
α5
α1
90°
NT
α13
α2
β3
α11
β2
α12
α3
α6
β13
β1
β12
α15
α14
β10
β11
β6
α8
β4
β7
α5
α1
α9
β9
α4
CT

ФИГ. 5B

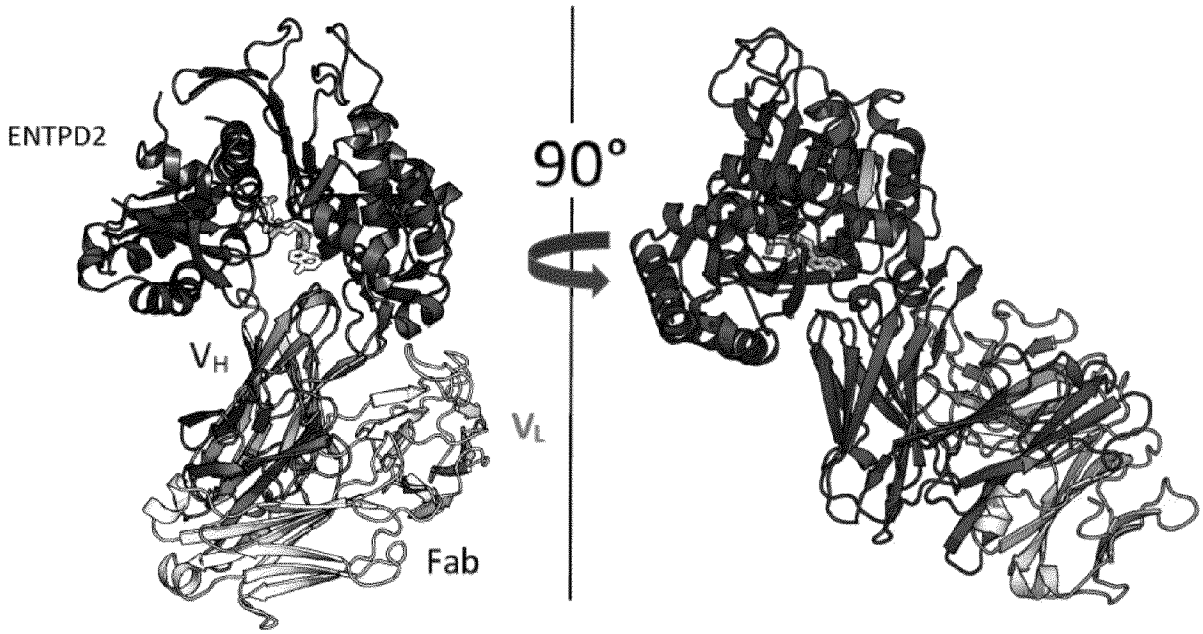
ФИГ. 6



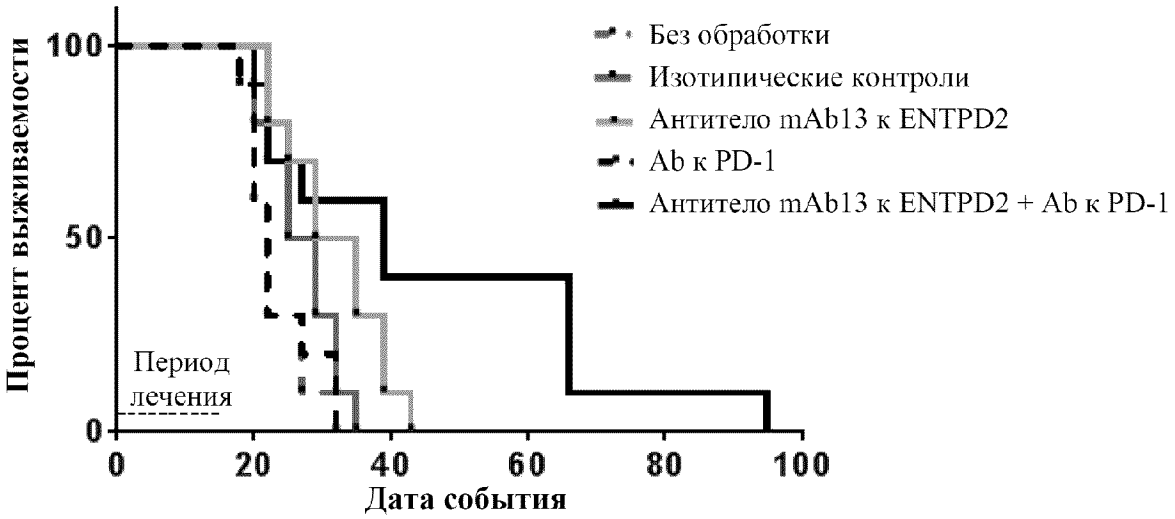
ФИГ. 7



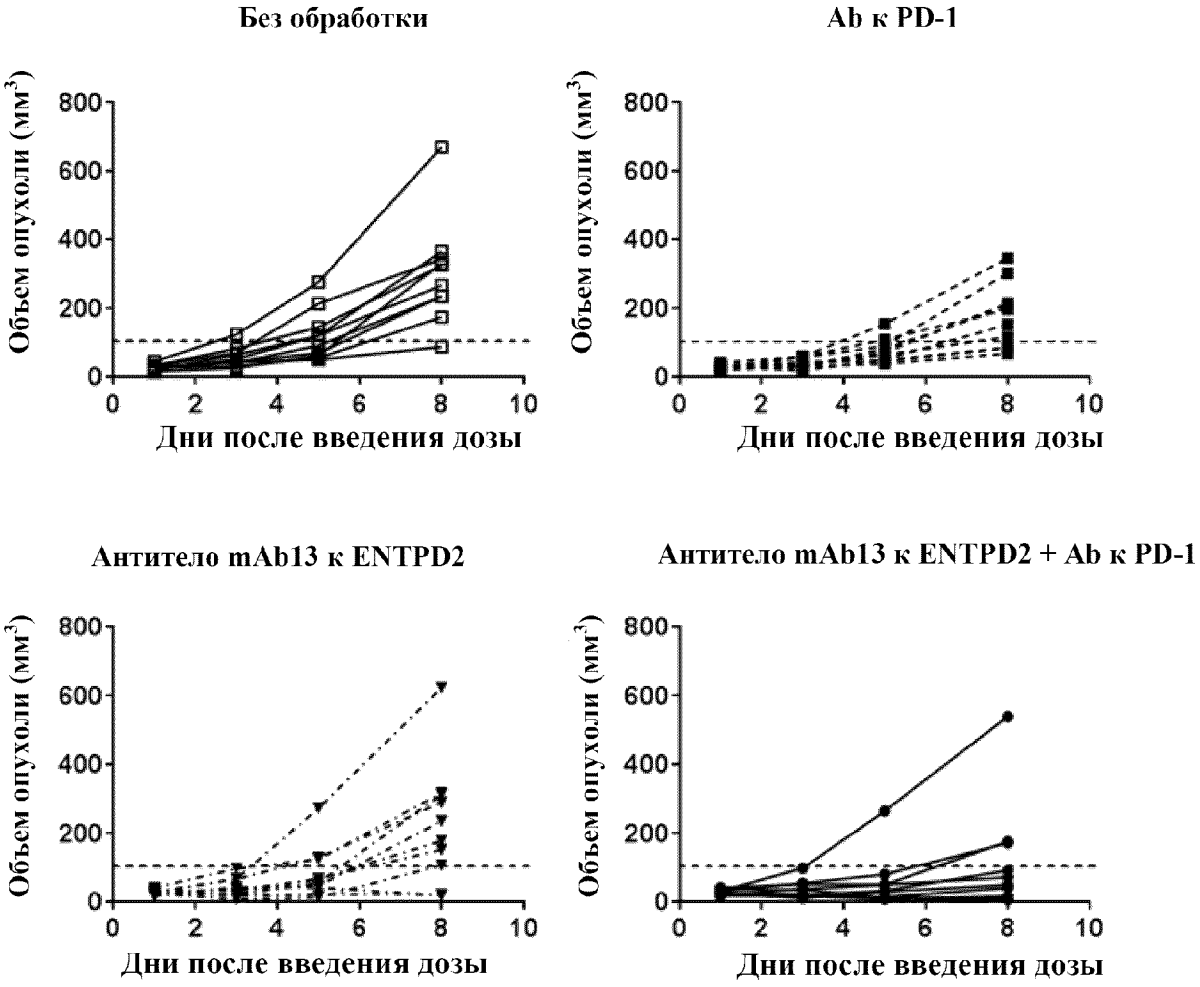
ФИГ. 8



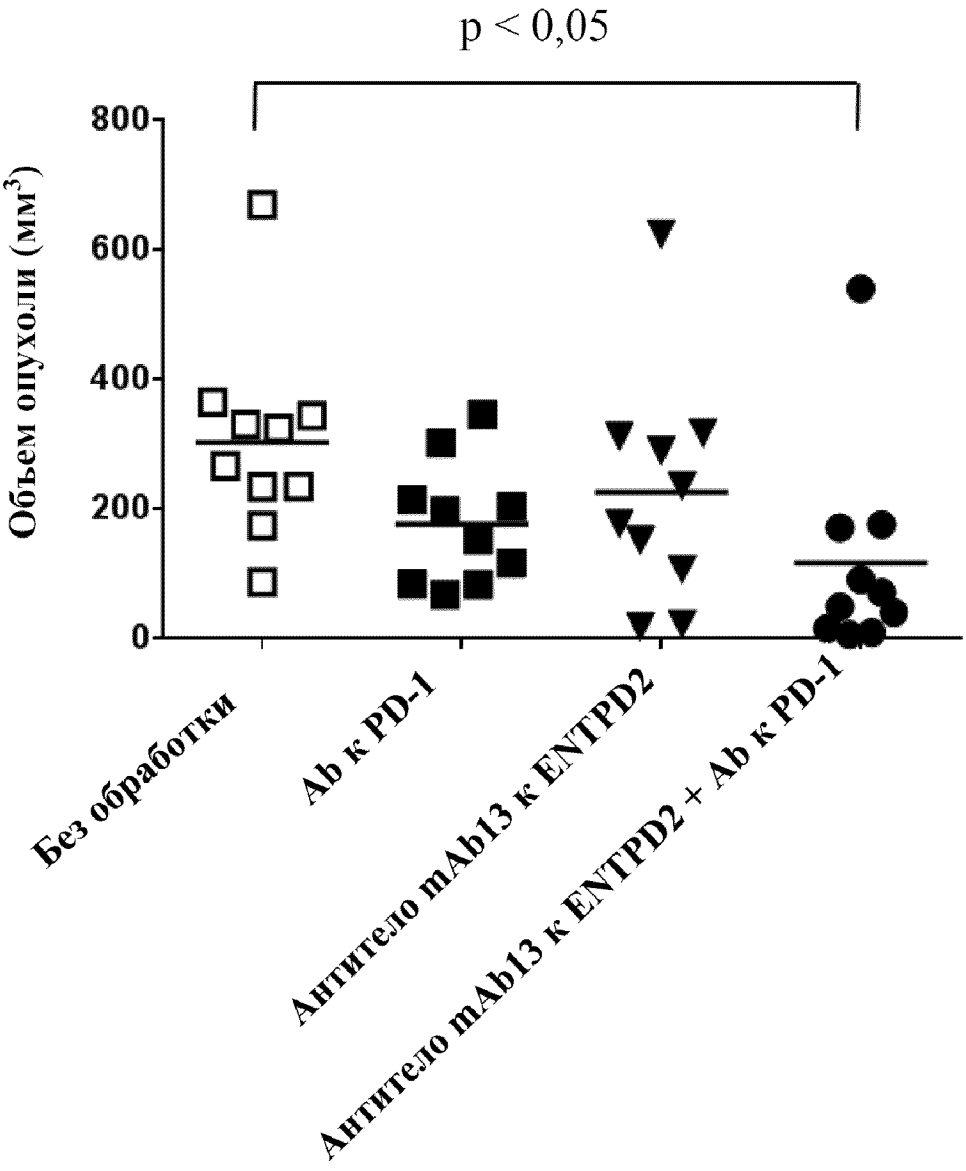
ФИГ. 9


Процент выживаемости
100
50
0
0
20
40
60
80
100
Дата события
Период
лечения
Без обработки
Изотипические контроли
Антитело mAb13 к ENTPD2
Ab к PD-1
Антитело mAb13 к ENTPD2 + Ab к PD-1

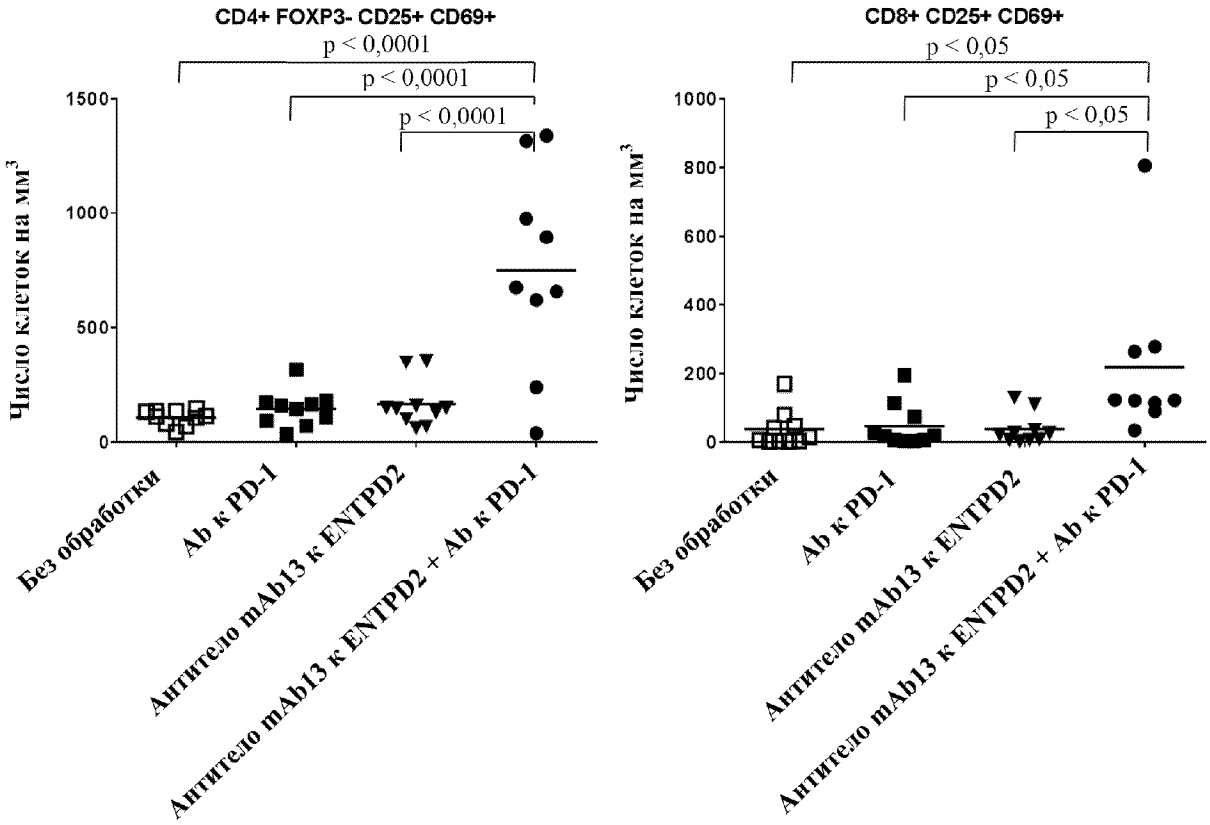
ФИГ. 10А


Без обработки
Ab к PD-1
Антитело mAb13 к ENTPD2
Антитело mAb13 к ENTPD2 + Ab к PD-1
Объем опухоли (мм3)
Дни после введения дозы
0
200
400
600
800
0
2
4
6
8
10

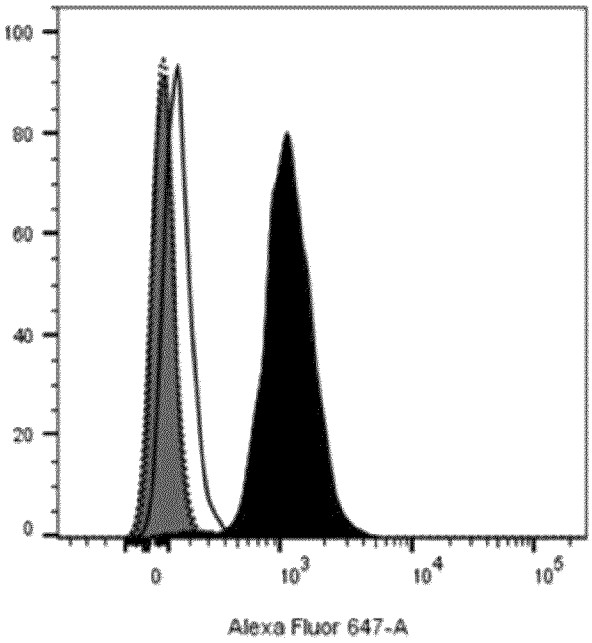
ФИГ. 10B


p < 0,05
Объем опухоли (мм3)
800
600
400
200
0
Без обработки
Ab к PD-1
Антитело mAb13 к ENTPD2
Антитело mAb13 к ENTPD2 + Ab к PD-1

ФИГ. 10C

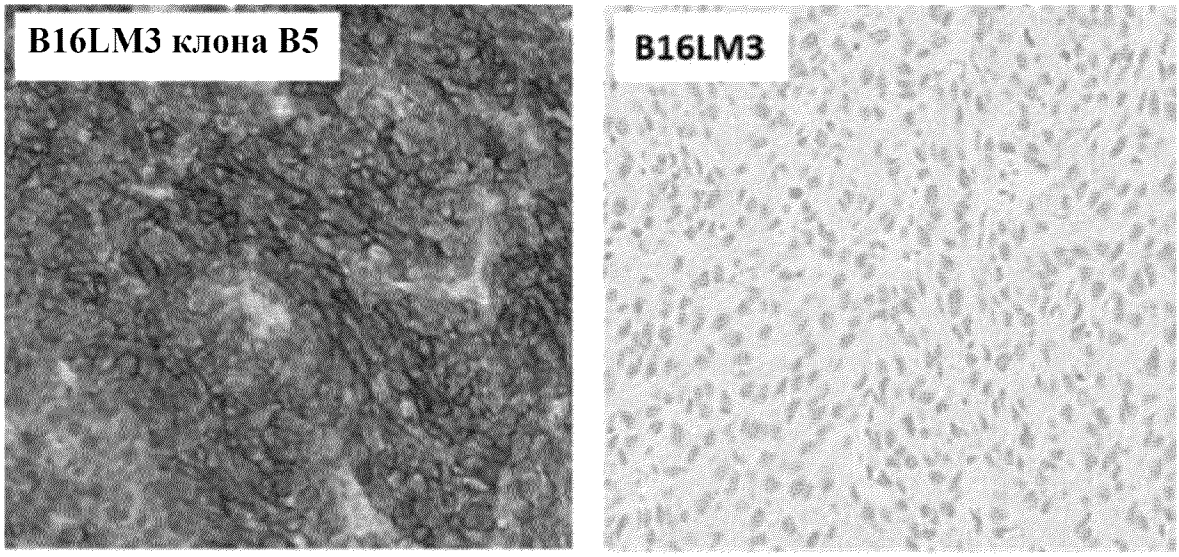

CD4+ FOXP3- CD25+ CD69+
p < 0,0001
p < 0,0001
p < 0,0001
Число клеток на мм3
1500
1000
500
0
Без обработки
Ab к PD-1
Антитело mAb13 к ENTPD2
Антитело mAb13 к ENTPD2 + Ab к PD-1
CD8+ CD25+ CD69+
p < 0,05
p < 0,05
p < 0,05
Число клеток на мм3
1000
800
600
400
200
0
Без обработки
Ab к PD-1
Антитело mAb13 к ENTPD2
Антитело mAb13 к ENTPD2 + Ab к PD-1

ФИГ. 11А

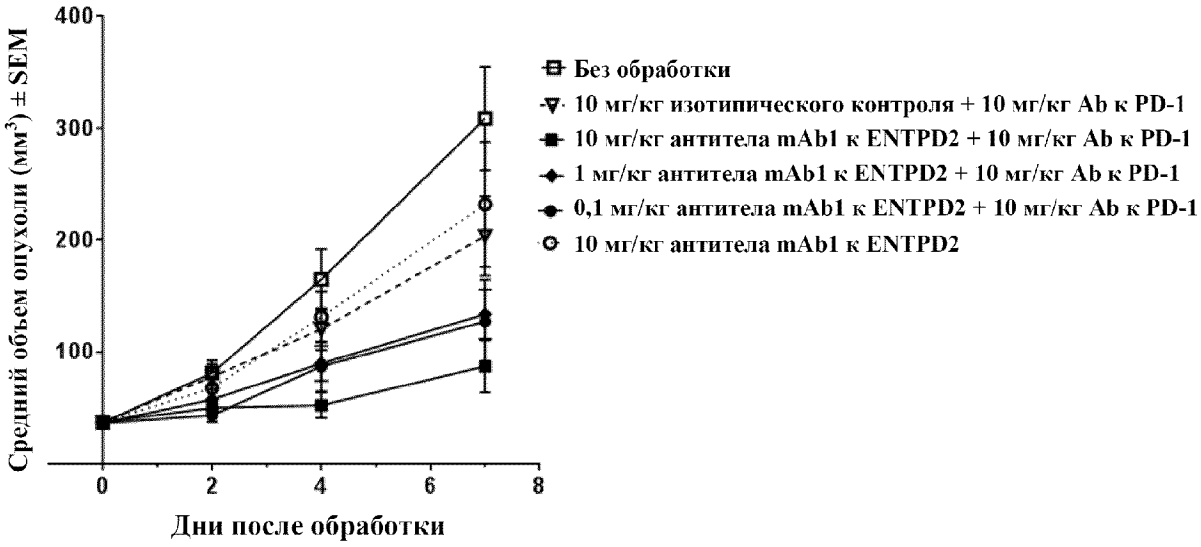


Ab к ENTPD2 человека (hIgG1) + AF647-меченное антитело к IgG человека
Вторичное антитело к IgG человека в отдельности
Ab к ENTPD2 мыши (mIgG2a) + AF647-меченное антитело к IgG мыши
AF647-меченное антитело к IgG мыши

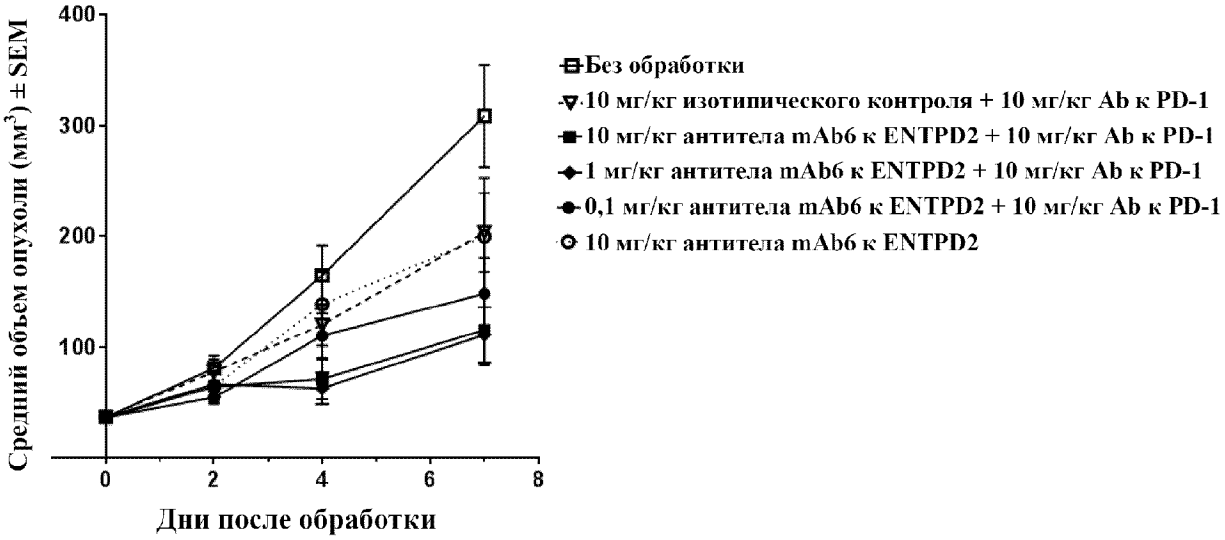
ФИГ. 11B



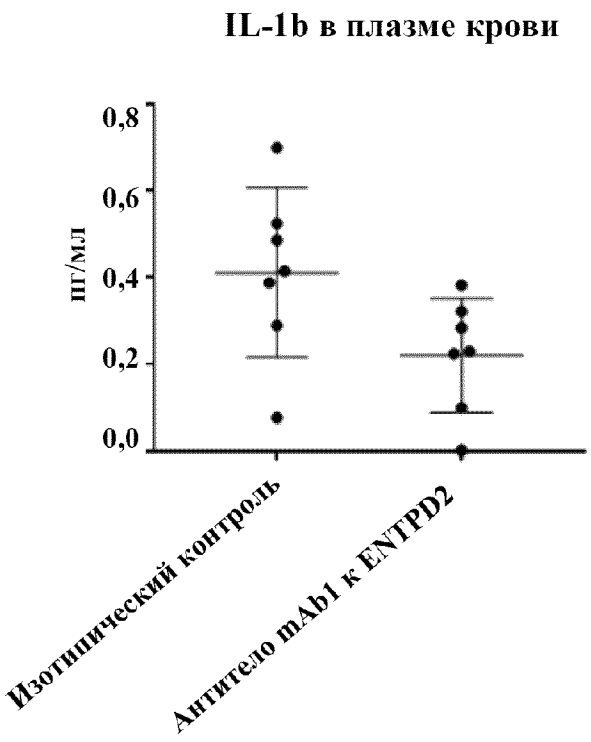
ФИГ. 12А


Средний объем опухоли (мм3) ± SEM
400
300
200
100
0
2
4
6
8
Дни после обработки
Без обработки
10 мг/кг изотипического контроля + 10 мг/кг Ab к PD-1
10 мг/кг антитела mAb1 к ENTPD2 + 10 мг/кг Ab к PD-1
1 мг/кг антитела mAb1 к ENTPD2 + 10 мг/кг Ab к PD-1
0,1 мг/кг антитела mAb1 к ENTPD2 + 10 мг/кг Ab к PD-1
10 мг/кг антитела mAb1 к ENTPD2

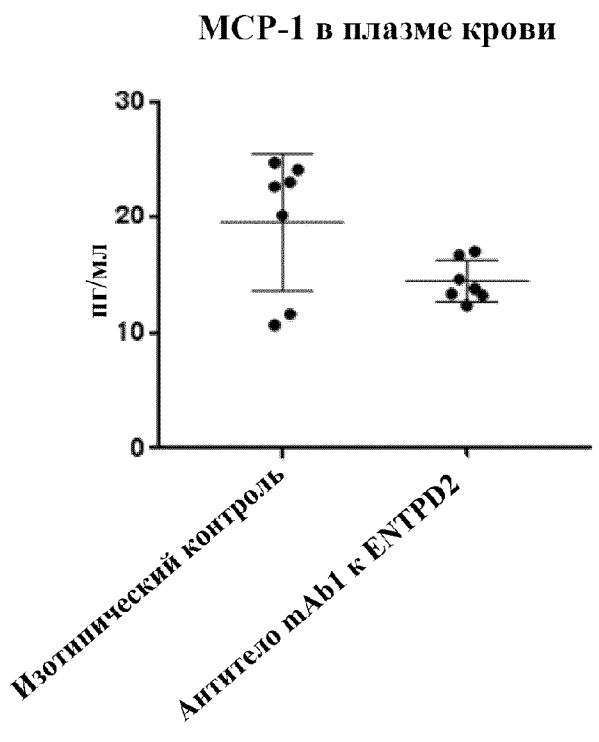
ФИГ. 12B


Средний объем опухоли (мм^3) ± SEM
400
300
200
100
0
2
4
6
8
Дни после обработки
Без обработки
10 мг/кг изотипического контроля + 10 мг/кг Ab к PD-1
10 мг/кг антитела mAb6 к ENTPD2 + 10 мг/кг Ab к PD-1
1 мг/кг антитела mAb6 к ENTPD2 + 10 мг/кг Ab к PD-1
0,1 мг/кг антитела mAb6 к ENTPD2 + 10 мг/кг Ab к PD-1
10 мг/кг антитела mAb6 к ENTPD2

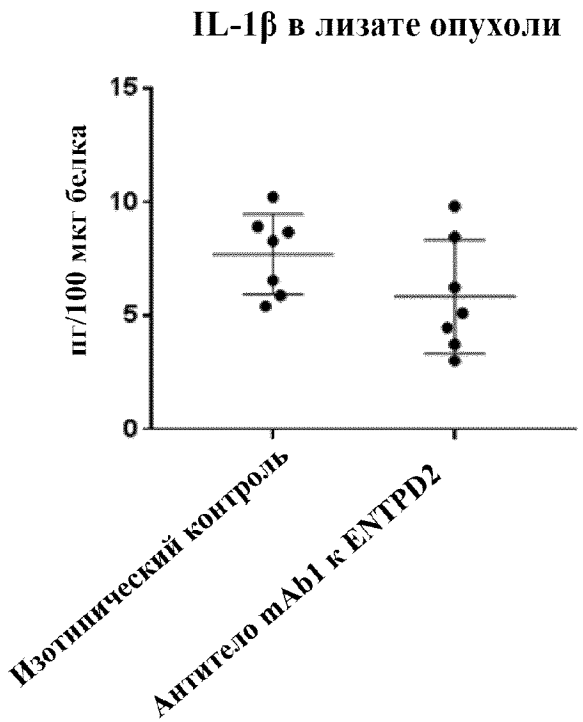
ФИГ. 13A



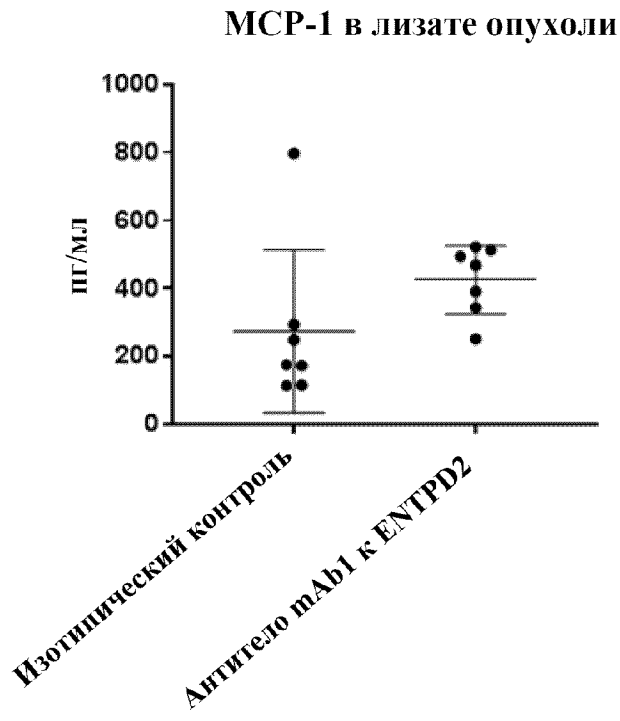
ФИГ. 13B



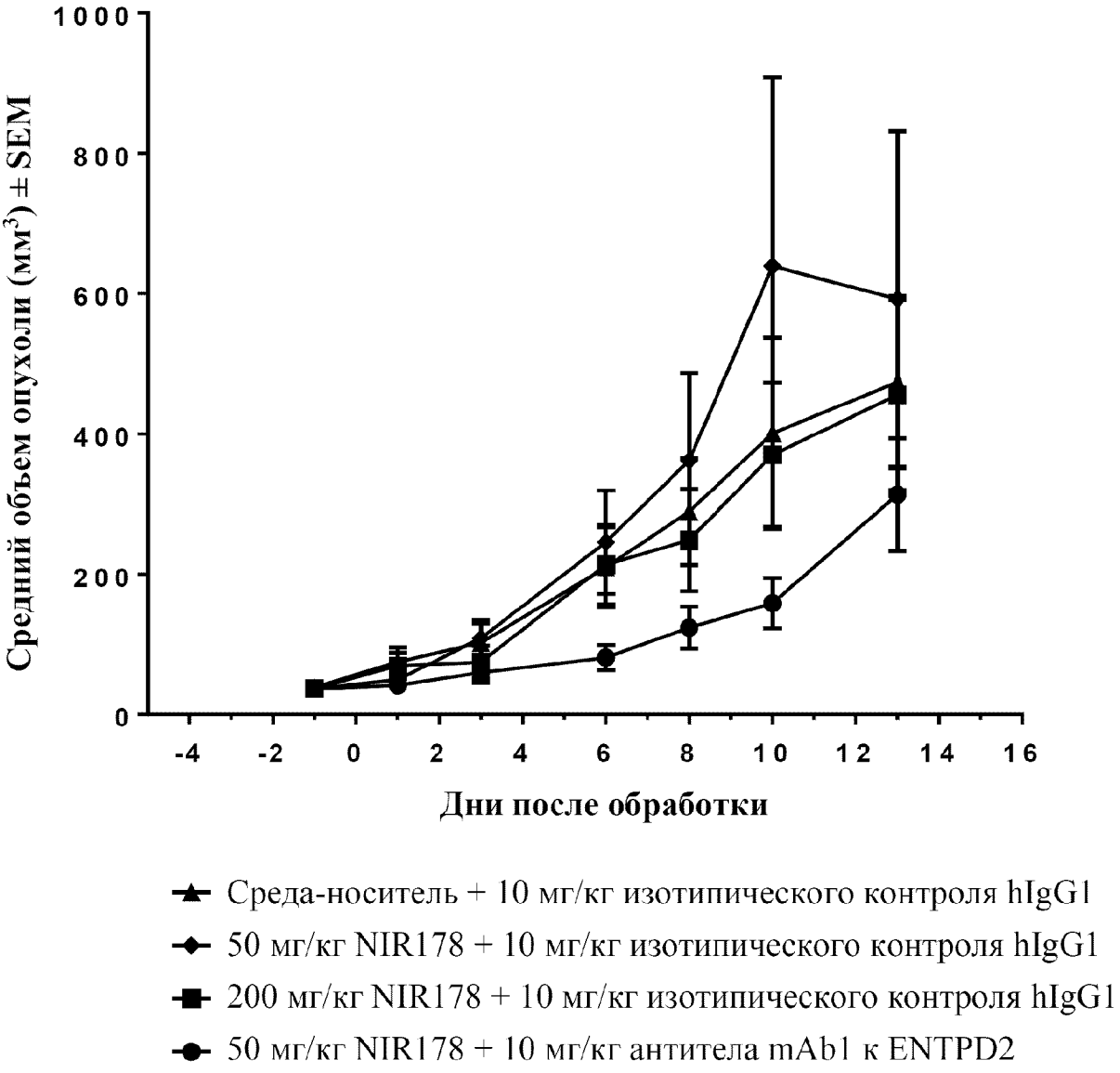
ФИГ. 13C



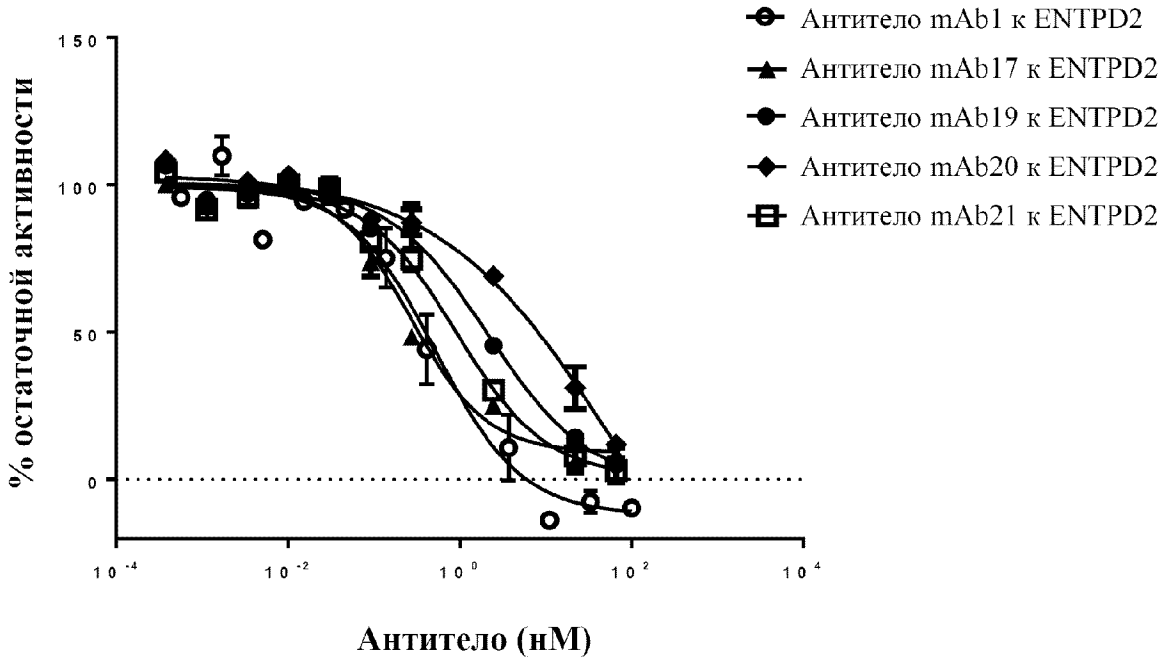
ФИГ. 13D



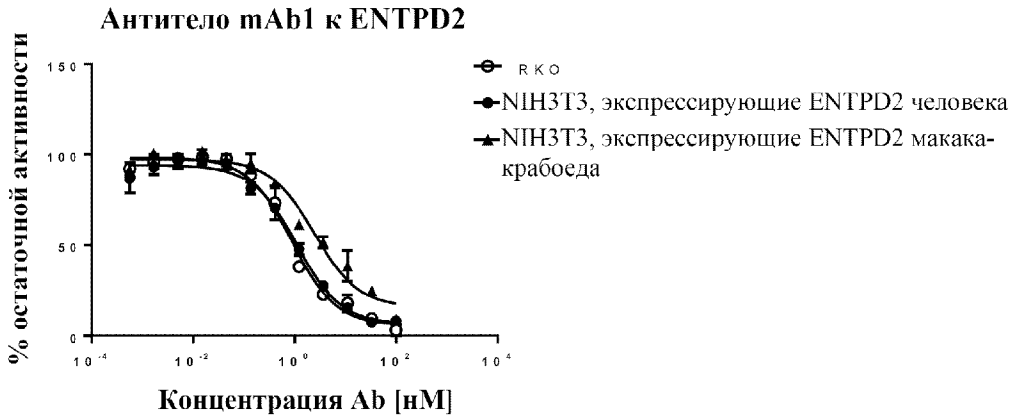
ФИГ. 14


1000
800
600
400
200
0
Средний объем опухоли (мм^3) ± SEM
-4
-2
0
2
4
6
8
10
12
14
16
Дни после обработки
Среда-носитель + 10 мг/кг изотипического контроля hIgG1
50 мг/кг NIR178 + 10 мг/кг изотипического контроля hIgG1
200 мг/кг NIR178 + 10 мг/кг изотипического контроля hIgG1
50 мг/кг NIR178 + 10 мг/кг антитела mAb1 к ENTPD2

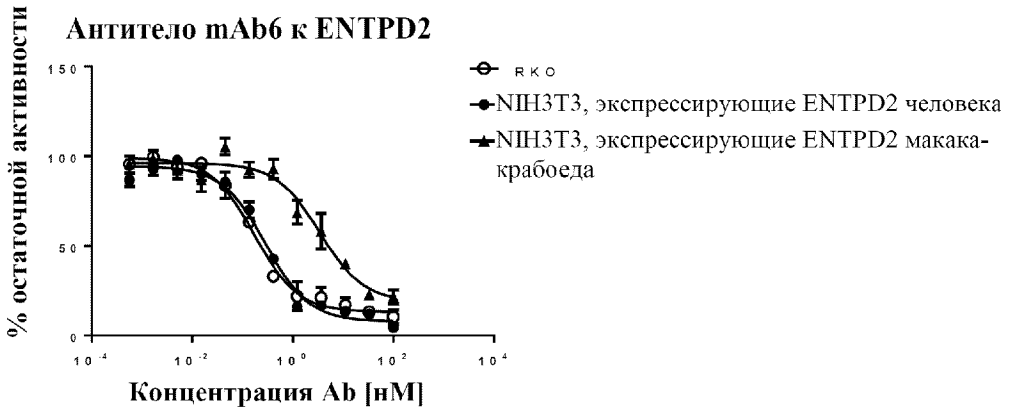
ФИГ. 15


Антитело mAb1 к ENTPD2
Антитело mAb17 к ENTPD2
Антитело mAb19 к ENTPD2
Антитело mAb20 к ENTPD2
Антитело mAb21 к ENTPD2
% остаточной активности
150
100
50
0
10 -4
10 -2
10 0
10 2
10 4
Антитело (нМ)

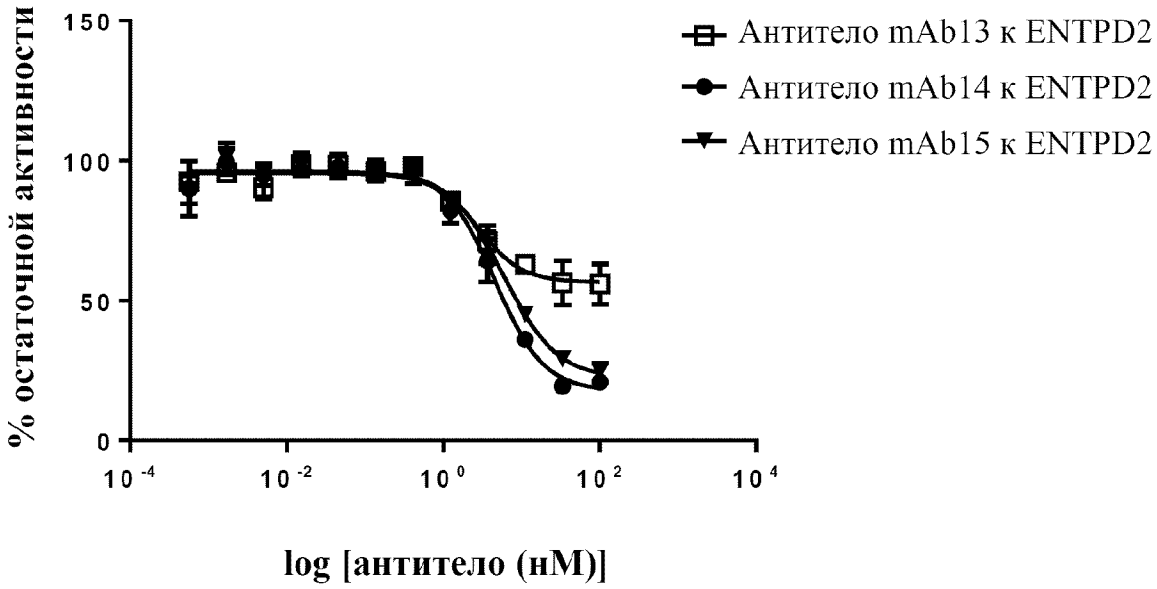
ФИГ. 16A



ФИГ. 16B



ФИГ. 17


% остаточной активности
150
100
50
0
10 -4
10 -2
10 0
10 2
10 4
log [антитело (нМ)]
Антитело mAb13 к ENTPD2
Антитело mAb14 к ENTPD2
Антитело mAb15 к ENTPD2