(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202190866 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.08.26

(22) Дата подачи заявки
2019.09.24

(51) Int. Cl. ***C07K 16/28*** (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) SIRPα-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **62/737,782; 62/853,997**
(32) **2018.09.27; 2019.05.29**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/052604**
(87) **WO 2020/068752 2020.04.02**

(71) Заявитель:
СЕЛДЖИН КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
Аббасиан Махан, Чан Генри Г., Эскубе Лор, Фенальти Густаво, Харихаран Кандасами, Леунг Моника Вай Лин, Мавромматис Константинос, Миколон Дэвид П., Рэймон Хизер К., Сантос Карло Стивен, Сунь Дзеонгхоон, Траут Кристина Валери (US)

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

(57) В настоящем документе предложены композиции, способы и применения, включающие антитела, которые специфически связываются с сигнальным регуляторным белком-α (SIRPα) и модулируют активность SIRPα.



202190866 A1

202190866 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-567790EA/032

SIRPα-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент в США № 62/737782, поданной 27 сентября 2018 года, и предварительной заявке на патент США № 62/853997, поданной 29 мая 2019 года, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

1. ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001] В настоящем документе предложены композиции, способы и применения, включающие антитела, которые специфически связываются с сигнальным регуляторным белком-α (SIRPα) и модулируют активность SIRPα.

2. КРАТКАЯ СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] В настоящем изобретении предложены белки, которые связываются с SIRPα (*например*, SIRPα человека, SEQ ID NO:146), включая связывающие белки, такие как антитела, которые связываются с SIRPα Такие связывающие белки, включая антитела, могут связываться с полипептидом SIRPα, фрагментом SIRPα и/или эпитопом SIRPα. Такие связывающие белки, включая антитела, могут быть антагонистами или SIRPα-блокирующим антителом, которые конкурируют с лигандом SIRPα (*например*, CD47) за взаимодействие с SIRPα. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложено антитело. В других вариантах осуществления в настоящем документе предложен антигенсвязывающий фрагмент антитела.

[0003] В одном аспекте, в настоящем документе предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который (a) связывается с эпитопом SIRPα человека, распознаваемого антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80; или (b) конкурирует за связывание SIRPα человека с антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80.

[0004] В другом аспекте, в настоящем документе предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с SIRPα, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую определяющую комплементарность область 1 VL (CDR1), CDR2 VL и CDR3 VL любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13, как указано в таблице 1; и/или (b) вариабельную область тяжелой цепи (VH), включающую определяющую комплементарность область 1 VH (CDR1), CDR2 VH и CDR3 VH любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3,

SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13, как указано в таблице 2.

[0005] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенный в настоящем документе, содержит: (a) вариабельную область легкой цепи (VL), дополнительно содержащую каркасную область 1 VL (FR1), FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB -13, как указано в таблице 3; и/или (b) вариабельную область тяжелой цепи (VH), дополнительно включающую каркасную область 1 VH (FR1), FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13, как указано в таблице 4.

[0006] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленный в данном документе, включает в себя CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 62, 63 и 65, соответственно, и CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, включающие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 78, 69 и 57, соответственно.

[0007] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленный в настоящем документе, включает CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 62, 63 и 65, соответственно, и CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 82, 83 и 57, соответственно.

[0008] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67.

[0009] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:32. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36. В определенных вариантах осуществления антитело

или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90.

[0010] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность: 18, и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность: 46, и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60. В определенных вариантах осуществления антитело

или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность: 67, и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90.

[0011] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOS: 18, 46 и 67; и (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOS: 9, 22, 27, 32, 36, 42, 50, 60, 71, 76, 80, 85 и 90.

[0012] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG1 человека или ее мутантную форму. В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область с K322A IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область с AAS IgG1человека.

[0013] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG4 человека или ее мутантную форму. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG4P человека. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG4PE человека. В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 144, 155-159.

[0014] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 211.

[0015] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:211; и (b) Fc-область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 144, 155-159.

[0016] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

[0017] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:202. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:208. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:209. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:213. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:214. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:215. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:216. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:217. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:218. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO:220. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:221. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:204. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:222. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:223. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:207. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:117. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:110. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148.

[0018] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 212. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 213. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 214. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 215. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 217. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 218. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 219. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 220. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 221. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 204. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 222. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 223. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 208; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 209; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 210; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148.

[0019] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) легкую цепь, содержащую аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 143, 200, 202, 208, 209 и 210; и (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOS: 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 142, 204, 222, 223, 207, 117, 110, 148, 119, 98, 120, 112, 205, 106, 118 и 111.

[0020] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-74 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 93-98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-93 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[0021] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются по меньшей мере с одним из остатков, выбранных из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с L30 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с I36 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с Q52 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с T67 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с R69 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с F74 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с K93 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с R95 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα,

связываются с K96 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с S98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается с T67, R69, R95, K96 и S98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[0022] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшает связывание между SIRPα и CD47. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшает связывание между SIRPα и CD47, при этом SIRPα содержит гаплотип в домене IgV, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшают связывание CD47 с каждым из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[0023] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшают связывание между SIRPα и CD47, при этом уменьшение связывания CD47-SIRPα составляет 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99%.

[0024] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшают связывание между SIRPα и CD47, при этом EC_{50} антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для уменьшения связывания CD47-SIRPα составляет от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ или от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшают связывание между SIRPα и CD47, при этом EC_{50} антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для уменьшения связывания CD47-SIRPα составляет примерно 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ, примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ или примерно 6,0 нМ.

[0025] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его

антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно 100% или примерно или по меньшей мере 95%, 90%, 85%, 80% или 75% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 95% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 90% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 85% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 75% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно 100% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 часа после введения пациенту и поддерживают примерно 100% занятости в течение примерно или по меньшей мере 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 95% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 часа после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 95% занятости в течении примерно или по меньшей мере 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 90% занятости рецептора SIRPα в течение 24 часов после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 90% занятости в течении примерно или по меньшей мере 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 85% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 часа после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 85% занятости в течении примерно или по меньшей мере 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают

примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно 100%, примерно или по меньшей мере 95%, примерно или по меньшей мере 90%, примерно или по меньшей мере 85% или примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно 100%, примерно или по меньшей мере 95%, примерно или по меньшей мере 90%, примерно или по меньшей мере 85% или примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 95%, примерно или по меньшей мере 90%, примерно или по меньшей мере 85% или примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно 100%, примерно или по меньшей мере 95%, примерно или по меньшей мере 90%, примерно или по меньшей мере 85% или примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 95%, примерно или по меньшей мере 90%, примерно или по меньшей мере 85% или примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 24 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно 100%, примерно или по меньшей мере 95%, примерно или по меньшей мере 90%, примерно или по меньшей мере 85% или примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении еще 24 часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно 100% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 24 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 95% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 24 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают

примерно или по меньшей мере 90% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 24 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 85% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 24 или более часов. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигают примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 24 после введения пациенту и поддерживают примерно или по меньшей мере 80% занятости в течении примерно или по меньшей мере 24 или более часов. В некоторых вариантах осуществления занятость рецептора, предусмотренная в этом абзаце, может быть достигнута и/или поддерживаться как предусмотрено в этом абзаце разовой дозой 0,1 мг/кг, 0,2 мг/кг, 0,3 мг/кг, 0,4 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,6 мг/кг, 0,7 мг/кг, 0,8 мг/кг, 0,9 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,1 мг/кг, 1,2 мг/кг, 1,3 мг/кг, 1,4 мг/кг, 1,5 мг/кг, 1,6 мг/кг, 1,7 мг/кг, 1,8 мг/кг, 1,9 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,1 мг/кг, 2,2 мг/кг, 2,3 мг/кг, 2,4 мг/кг, 2,5 мг/кг, 2,6 мг/кг, 2,7 мг/кг, 2,8 мг/кг, 2,9 мг/кг или 3,0 мг/кг антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, представленного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления занятость рецептора, описанная в данном документе, может быть достигнута и/или поддерживаться, как описывается в данном параграфе, разовой дозой 25 мг, 30 мг, 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 90 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг, 800 мг, 850 мг, 900 мг, 950 мг, 1000 мг, 1050 мг, 1100 мг, 1150 мг, 1200 мг, 1250 мг, 1300 мг, 1350 мг, 1400 мг, 1450 мг, 1500 мг, 1550 мг, 1600 мг, 1650 мг, 1700 мг, 1750 мг, 1800 мг, 1850 мг, 1900 мг, 1950 мг, 2000 мг, 2100 мг, 2200 мг, 2300 мг, 2400 мг, 2500 мг, 2600 мг, 2700 мг, 2800 мг, 2900 мг, 3000 мг, 3100 мг, 3200 мг, 3300 мг, 3400 мг, 3500 мг, 3600 мг, 3700 мг, 3800 мг, 3900 мг или 4000 мг антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, представленного в данном документе.

[0026] В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с одним или более 6 гаплотипами SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO:154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с каждым из 6 гаплотипов SIRPα. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с каждым из 6 гаплотипов SIRPα с константой диссоциации (K_D) не более 5 нМ.

[0027] В некоторых вариантах осуществления антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v1 с K_D не более 0,2 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v1 с константой диссоциации (K_D) примерно 0,13 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v2 с K_D не более 5 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v2 с K_D примерно 4,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v3 с K_D не более 0,2 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v3 с K_D примерно 0,15 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v4 с K_D не более 2 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v4 с K_D примерно 1,5 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v5 с K_D не более 0,7 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v5 с K_D примерно 0,6 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v6 с K_D не более 0,2 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v6 с K_D примерно 0,18 нМ.

[0028] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SIRPα человека, экспрессируемым на клетке, с EC_{50} от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ или от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SIRPα человека, экспрессируемым на клетке, с EC_{50} примерно 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ или примерно 6,0 нМ.

[0029] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с SIRPα человека и/или SIRPα обезьяны, но не с SIRPα грызуна. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SIRPα яванского макака (макака),

экспрессируемым на клетке, с EC_{50} от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ или от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SIRPα макака, экспрессируемым на клетке, с EC_{50} примерно 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ или примерно 6,0 нМ.

[0030] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент используется как одно лекарственное средство.

[0031] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент используется в комбинации с вторым лекарственным средством. В некоторых вариантах осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб или ритуксимаб. В одном варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб. В другом варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой ритуксимаб.

[0032] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля, при этом SIRPα экспрессируется на макрофаге, раковых клетках или как макрофаге, так и раковых клетках. В некоторых вариантах осуществления SIRPα на макрофаге и/или раковых клетках представляет собой один или более из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6

гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[0033] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент увеличивает минимальный процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов на примерно 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз макрофагом примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900% или 1000%, по сравнению с необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля.

[0034] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки происходят из колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза или диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL, англ.: diffuse large B-cell lymphoma). В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки происходят из неходжкинской лимфомы (NHL), такой как DLBCL, фолликулярная лимфома, лимфома маргинальной зоны и лимфома из клеток мантии. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки происходят из фолликулярной лимфомы степени 1, фолликулярной лимфомы степени 2, фолликулярной лимфомы степени 3a, фолликулярной лимфомы степени 3b, рецидивирующей фолликулярной лимфомы (включая, *например*, степени 1, 2, 3a и 3b), рефрактерной фолликулярной лимфомы (включая, *например*, степени 1, 2, 3a и 3b), рецидивирующей DLBCL или рефрактерной DLBCL.

[0035] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент действует синергетически со вторым лекарственным средством, усиливая фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля. В некоторых

вариантах осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб или ритуксимаб. В одном варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб. В другом варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой ритуксимаб.

[0036] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент действует синергетически со вторым лекарственным средством, усиливая фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля, при этом SIRPα экспрессируется на макрофагах, раковых клетках или как на макрофагах, так и на раковых клетках. В некоторых вариантах осуществления SIRPα на макрофаге и/или раковых клетках представляет собой один или более из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[0037] В определенных вариантах осуществления разница между процентным содержанием синергетически индуцированных фагоцитотических макрофагов и суммой процентного содержания фагоцитотических макрофагов, индуцированных антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и вторым лекарственным средством отдельно, составляет примерно 10%, 15%, 20%, 25% , 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% или 70%. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе лекарственное средство синергетически увеличивают процентное содержание фагоцитотических макрофагов относительно суммы процентного содержания фагоцитотических макрофагов, индуцированных антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и вторым лекарственным средством отдельно, примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300% или 400%.

[0038] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе лекарственное средство синергетически усиливают фагоцитоз раковых клеток, при этом раковые клетки происходят из колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза или DLBCL. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе лекарственное средство синергетически усиливают фагоцитоз раковых клеток, при этом раковые клетки происходят из NHL, такой как DLBCL, фолликулярная лимфома, лимфома маргинальной зоны и лимфома из мантийных клеток. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе лекарственное средство синергетически усиливают фагоцитоз раковых клеток, при этом раковые клетки происходят из

фолликулярной лимфомы степени 1, фолликулярной лимфомы степени 2, фолликулярной лимфомы степени 3a, фолликулярной лимфомы степени 3b, рецидивирующей фолликулярной лимфомы (включая, *например*, степени 1, 2, 3a и 3b), рефрактерной фолликулярной лимфомы (включая, *например*, степени 1, 2, 3a и 3b), рецидивирующей DLBCL или рефрактерной DLBCL.

[0039] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет ослабленную активность АЗКЦ по сравнению с антителом изотипического контроля, ослабленную активность АЗКФ по сравнению с антителом изотипического контроля и/или ослабленную активность КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет ослабленную активность АЗКЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления максимальная активность АЗКЦ антитела или его антигенсвязывающего фрагмента составляет не более чем примерно 5%, 10%, 20%, 30% или 40% цитотоксичности, измеренной по процентному содержанию убитых клеток-мишеней. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет ослабленную активность АЗКФ по сравнению с антителом изотипического контроля. В других вариантах осуществления максимальная активность АЗКФ антитела или его антигенсвязывающего фрагмента составляет не более чем примерно 5%, 10%, 20% или 30% фагоцитотических макрофагов, нацеленных на аутологичные Т-клетки и/или моноциты. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет ослабленную активность КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В другом варианте осуществления EC_{50} антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в анализе КЗЦ составляет по меньшей мере 100 мкМ.

[0040] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не индуцирует высвобождение цитокинов, превышающее уровень высвобождения цитокинов, индуцированный антителом изотипического контроля.

[0041] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложено антитело. В других вариантах осуществления в настоящем документе предложен антигенсвязывающий фрагмент антитела.

[0042] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гуманизированное, человеческое или химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой деиммунизированное антитело или композитное человеческое антитело. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, dsFv, диатело, триатело, тетратело или мультиспецифическое антитело, образованное из фрагментов антител.

[0043] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с агентом. В некоторых вариантах осуществления агент, конъюгированный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, выбран из группы, состоящей из радиоактивного изотопа, металлохелатора, фермента, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения и хемилюминесцентного соединения.

[0044] В другом аспекте, в настоящем документе предложена композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0045] В одном аспекте, в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие антитело, предложенное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, предложенного в данном документе.

[0046] В другом аспекте, в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий последовательности нуклеиновых кислот, кодирующих антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с SIRPα, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13 как указано в таблице 1; и/или (b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10, SIRPAB-12 или SIRPAB-13 как указано в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий последовательности нуклеиновых кислот, кодирующих антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с SIRPα, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) VL дополнительно содержащий FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13 как указано в таблице 3; и/или (b) FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13 как указано в таблице 4.

[0047] В еще одном аспекте, в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие VH, VL или как VH, так и VL антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую цепь, легкую цепь или как тяжелую цепь, так и легкую цепь антитела, предложенного в данном документе. В

некоторых вариантах осуществления полинуклеотид функционально связан с промотором.

[0048] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен вектор, содержащий полинуклеотид, раскрытый в данном документе.

[0049] В других аспектах в настоящем документе предложена клетка, содержащая полинуклеотид, раскрытый в данном документе. В другом аспекте, в настоящем документе предложена клетка, содержащая вектор, раскрытый в данном документе. В других вариантах осуществления в описании предложена выделенная клетка, продуцирующая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе.

[0050] В некоторых аспектах в описании также предложен набор, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе.

[0051] В одном аспекте, в настоящем документе предложен способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, который специфически связывается с эпитопом SIRPα человека, включающий культивирование клетки, предложенной в данном документе, для экспрессии антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента включает экспрессию полинуклеотида, предложенного в данном документе.

[0052] В другом аспекте, в настоящем документе предложен способ увеличения фагоцитоза макрофагом, при этом способ включает контактирование макрофага с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, в результате чего фагоцитоз макрофагом усиливается по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления способов фагоцитотическая активность макрофага увеличивается примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900% или 1000%.

[0053] В другом аспекте, в настоящем документе предложен способ увеличения процентного содержания фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов, при этом способ включает контактирование макрофагов с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, в результате чего процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается по сравнению с таковым для необработанных макрофагов или макрофагов, обработанных антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления способа минимальное процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается на примерно 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%.

[0054] В одном аспекте, в настоящем документе предложен способ увеличения

фагоцитоза раковых клеток популяцией макрофагов, при этом способ включает контактирование раковых клеток, макрофагов или как раковых клеток, так и макрофагов с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, в результате чего фагоцитоз раковых клеток популяцией макрофагов усиливается по сравнению с таковым для необработанных макрофагов или макрофагов, обработанных антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления способов увеличения фагоцитоза раковых клеток популяцией макрофагов минимальное процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается на примерно 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50% , 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%.

[0055] В некоторых вариантах осуществления способов фагоцитоз макрофагами измеряется с помощью совместно культивированных макрофагов, помеченных первым флуоресцентным красителем, и раковых клеток, помеченных вторым флуоресцентным красителем, при этом первый флуоресцентный краситель и второй флуоресцентный краситель разные. В некоторых вариантах осуществления способов процентное содержание фагоцитотических макрофагов измеряется путем определения процентного содержания макрофагов, содержащих раковые клетки.

[0056] В другом аспекте, в настоящем документе предложен способ увеличения фагоцитоза раковых клеток у субъекта, при этом способ включает введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, в результате чего фагоцитоз раковых клеток у субъекта усиливается по сравнению с таковым у необработанного субъекта или у субъекта, обработанного антителом изотипического контроля.

[0057] В определенном аспекте, в настоящем документе предложен способ повышения элиминирования раковых клеток путем фагоцитоза у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе.

[0058] В некоторых аспектах в описании также предложен способ нацеливания на раковые клетки для иммунодеплеции у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе.

[0059] В одном дополнительном аспекте в описании также предложен способ лечения рака у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе.

[0060] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, рак выбран из группы, состоящей из колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза и DLBCL. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, рак представляет собой NHL, такую как DLBCL, фолликулярную лимфому,

лимфому маргинальной зоны и лимфому из клеток мантии. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, рак выбран из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы степени 1, фолликулярной лимфомы степени 2, фолликулярной лимфомы степени 3a, фолликулярной лимфомы степени 3b, рецидивирующей фолликулярной лимфомы (включая, *например,* степени 1, 2, 3a и 3b), рефрактерной фолликулярной лимфомы (включая, *например*, степени 1, 2, 3a и 3b), рецидивирующей DLBCL или рефрактерной DLBCL. В других вариантах осуществления способов, раковые клетки, макрофаги или как раковые клетки, так и макрофаги в способах экспрессируют SIRPα.

[0061] В некоторых вариантах осуществления различных методов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки, макрофаги или как раковые клетки, так и макрофаги экспрессируют SIRPα, при этом SIRPα является одним или более из 6 гаплотипов SIRPα, выбранных из группы, состоящей из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6. В определенных вариантах осуществления SIRPα v1 содержит SEQ ID NO: 149 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα v2 содержит SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В одном варианте осуществления SIRPα v3 содержит SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В других вариантах осуществления SIRPα v4 содержит SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα v5 содержит SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В других вариантах осуществления SIRPα v6 содержит SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[0062] В других вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент совместно вводят со вторым лекарственным средством. В некоторых вариантах осуществления способов, второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб или ритуксимаб. В одном варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб. В другом варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой ритуксимаб.

[0063] В определенных вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект выбран из группы, состоящей из человека, обезьяны, мыши, собаки и крысы. В конкретном варианте осуществления субъект представляет собой человека.

3. **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

[0064] На **Фиг. 1** показано краткое описание схемы получения, скрининга, идентификации и аффинного созревания антител к SIRPα.

[0065] На **Фиг. 2** показана идентификация наиболее распространенных полиморфизмов SIRPα, окружающих интерфейс CD47:SIRPα. DLN=наиболее распространенные полиморфизмы SIRPα, окружающие интерфейс CD47:SIRPα. Аминокислотные остатки, выделенные красным цветом, соответствуют выявленным различиям, охватывающим приблизительно 95% полиморфизмов SIRPα на связывающей поверхности CD47-SIRPα в человеческой популяции.

[0066] На **Фиг. 3** показано связывание CD11b-положительной клетки мыши с несколькими антителами к SIRPα, демонстрирующее, что антитела SIRPAB-11 и SIRPAB-12 не связываются с SIRPα мыши; в то время как SIRPAB-17 связывается с SIRPα мыши.

[0067] На **Фиг. 4A-4D** показано связывание SIRPAB-11 с клетками K1 яичника китайского хомячка, сверхэкспрессирующими SIRPα человека и яванского макака, но не с клетками, сверхэкспрессирующими SIRPα грызунов, и определение EC_{50} связывания SIRPAB-11. (**A**) EC_{50} связывания SIRPAB-11-K322A с SIRPα человека, эктопически экспрессированным на клетках CHO, составляет 2,06 нМ. (**B**) EC_{50} связывания SIRPAB-11-K322A с SIRPα макака, эктопически экспрессированным на клетках CHO, составляет 1,9 нМ. (**C**) SIRPAB-11 не связывается с SIRPα крысы-CHO-K1, поскольку связывание SIRPAB-11 с SIRPα крысы-CHO-K1 происходит только на уровне, сравнимом с уровнем IgG изотипического контроля; при этом положительный контроль, антитело OX-41 к SIRPα крысы, демонстрирует надежное связывание в том же анализе. (**D**) SIRPAB-11 не связывается с SIRPα мыши-CHO-K1, поскольку связывание SIRPAB-11 с SIRPα мыши-CHO-K1 происходит только на уровне, сравнимом с уровнем IgG изотипического контроля; при этом положительный контроль, антитело P84 к SIRPα мыши, демонстрирует надежное связывание в том же анализе. AF647=Alexa Fluor 647 нм; CHO=яичник китайского хомячка; макак=яванский макак; Геометрический MFI=средняя геометрическая интенсивность флуоресценции; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala.

[0068] На **Фиг. 5A-5F** показано связывание антител к SIRPα с SIRPα-экспрессирующими клетками. (**A**) Связывание (проявляется как совместное окрашивание) первичной CD14-положительной популяции человека (слева) и макака (справа) с SIRPAB-11-K322A. (**B**) Профиль связывания SIRPAB-11-K322A с подмножествами иммунных клеток в мононуклеарных клетках периферической крови человека, показанный как уровень связывания SIRPAB-11-K322A с различными иммунными клетками, как указано. AF647=Alexa Fluor 647 нМ; gMFI=средняя геометрическая интенсивность флуоресценции; ID=идентификация; NK-клетки=естественные клетки-киллеры; NKT-клетки=естественные киллерные Т-клетки. (**C**) Дополнительные анализы связывания первичных подмножеств иммунных клеток человека с SIRPAB-11-K322A. (**D**) Анализы связывания первичных подмножеств иммунных клеток яванского макака с SIRPAB-11-K322A. В (C) и (D), gMFI=средняя геометрическая интенсивность флуоресценции; мДК=миелоидные дендритные клетки; NK=естественный киллеры; н.с=несущественно; МКПК=мононуклеарные клетки периферической крови. (**E**) Связывание антитела SIRPAB-11-4PE с двумя донорами-яванскими макаками и EC_{50} SIRPAB-11-4PE для связывания с двумя донорами-яванскими макаками. (**F**) Связывание и аффинность SIRPAB-17, SIRPAB-19, SIRPAB-20, SIRPAB-21 и SIRPAB-18 к SIRPα-экспрессирующим клеткам. SIRPAB-19, SIRPAB-20 и SIRPAB-21 связываются с SIRPα мыши с наибольшей аффинностью. Связывание антител изотипического контроля также проводили в качестве отрицательного контроля.

[0069] На **Фиг. 6A-6B** показано, что антитело к SIRPα блокирует связывание

между SIRPα и CD47. **(A)** Значение EC_{50} SIRPAB-11-K322A в блокировании взаимодействия между CD47-внеклеточным доменом и SIRPα, определенное в Biacore. CD=кластер дифференциации; нМ=наномоль; ЕП=единица преломления. **(B)** Блокирующая активность антител к SIRPα мыши в сравнении со связывания между рекомбинантным CD47 мыши и макрофагами C57/BL6.

[0070] На **Фиг. 7A-7B показана** кристаллическая структура SIRPAB-11-Fab, связанного с доменом 1 SIRPα. **(A)** Кристаллическая структура SIRPAB-11-Fab, связанного с доменом 1 SIRPα, и остатки в SIRPα, взаимодействующие с SIRPAB-11-Fab. HC= тяжелая цепь; LC= легкая цепь. HC SIRPAB-11-Fab (окрашена в синий цвет) из SIRPAB-11-Fab опосредует большинство взаимодействий (желтые пунктирные линии) с SIRPα (окрашен в пурпурный цвет) и отображает центрально расположенную CDR3 HC (черная стрелка), которая выступает над поверхностью антигенсвязывающего фрагмента и вставляется в большой карман SIRPα. Наблюдаются три ключевых электростатических взаимодействия и обозначены черными звездочками. Дополнительные взаимодействия также наблюдаются между LC SIRPAB-11-Fab (окрашена серым цветом) и SIRPα. **(B)** Сравнение сайтов взаимодействия SIRPAB-11-Fab и CD47 на SIRPα. Fab=антигенсвязывающий фрагмент; HC=тяжелая цепь. HC CDR3 SIRPAB-11-Fab (синий рисунок) занимает тот же основной карман на SIRPα (пурпурная и оранжевая поверхности), который распознается петлей F-G CD47 (желтый рисунок). LC SIRPAB-11-Fab опущен для наглядности.

[0071] На **Фиг. 8** показан рост клеток и титр для получения SIRPAB-11-K322A в клетках яичника китайского хомячка Expi.

[0072] На **Фиг. 9A-9K** показана активность антителозависимой клеточной цитотоксичности, комплементзависимая активность и активность антителозависимого клеточного фагоцитоза SIRPAB-11-K322A. **(A)** SIRPAB-11 не индуцировал антителозависимую клеточную цитотоксичность клеточной линии MOLM-13 человека, экспрессирующей SIRPα. АЗКЦ=антителозависимая клеточная цитотоксичность; G&P=G & P Biosciences; HuMy 9.6=гуманизированное моноклональное антитело 9.6; IgG1= иммуноглобулин G1; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala, MOLM-13=клеточная линия острого миелоидного лейкоза. **(B)** Обработка SIRPAB-11-K322A не вызывала антителозависимой клеточной цитотоксичности в отношении аутологичных CD4-положительных Т-клеток в неактивированном состоянии. **(C)** Обработка SIRPAB-11-K322A не вызывала антителозависимой клеточной цитотоксичности в отношении аутологичных CD4-положительных Т-клеток в активированном состоянии. **(D)** Обработка SIRPAB-11-K322A не вызывала антителозависимой клеточной цитотоксичности в отношении аутологичных CD8-положительных Т-клеток в неактивированном состоянии. **(E)** Обработка SIRPAB-11-K322A не вызывала антителозависимой клеточной цитотоксичности в отношении аутологичных CD8-положительных Т-клеток в активированном состоянии. **(F)** и **(G)**Обработка SIRPAB-11-K322A не индуцировала антителозависимую клеточную цитотоксичность в отношении аутологичных моноцитов,

как измерено проточной цитометрией (**F**) и флуоресцентной цитометрией Mirrorball (**G**). На (**B**)-(**G**), Ab=антитело; АЗКЦ=антителозависимая клеточная цитотоксичность; CD=кластер дифференциации; Fc=кристаллизующийся фрагмент; IgG=иммуноглобулин; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; Max=максимум; NK=естественные клетки-киллеры. (**H**) и (**I**) Отсутствие комплемент-зависимой активности, опосредованной вариантами кристаллизующегося фрагмента SIRPAB-11 в присутствии комплемента кроличьей сыворотки. IgG1=иммуноглобулин G1; 4PE=иммуноглобулин G4 с мутациями Ser228Pro и Leu235Glu; mAb=моноклональное антитело; OCE=относительная световая единица; SIRPα=сигнальный регуляторный белок альфа. (**J**) Фагоцитоз макрофагами аутологичных Т-клеток от донора 224. (**K**) Фагоцитоз макрофагами аутологичных Т-клеток от донора 224. На (**J**) и (**K**), CD=кластер дифференциации; IgG1= иммуноглобулин G1; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; 4PE=иммуноглобулин G4 с мутациями Ser228Pro и Leu235Glu; SIRPα=сигнальный регуляторный белок альфа.

[0073] На **Фиг. 10A-10B** показан анализ иммуногенности антител. (**A**) Шкала иммуногенности антител EpiMatrix, наблюдаемые ответы ADA в известных антителах и прогнозируемые ответы ADA в представленных парах VH/VL SIRPAB-11-K322A и эталонного антитела к SIRPα, имеющего аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:224 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:225. Все прогнозы скорректированы с учетом присутствия Treg-эпитопов (англ.: Tregitopes). (**B**) Прогнозирование иммуногенности антител SIRPAB-11-K322A.

[0074] На **Фиг. 11A-11J** показан профиль высвобождения цитокинов иммунными клетками человека, обработанными SIRPAB-11. (**A**)-(**I**) Данные анализа высвобождения цитокинов клетками из образцов, обработанных SIRPAB-11-K322A, включая интерлейкин 1β (**A**), интерлейкин 6 (**B**) и фактор некроза опухоли альфа (TNFα) (**C**), интерлейкин 12p70 (**D**), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) (**E**), интерлейкин 2 (**F**), интерферон гамма (ИФН-γ) (**G**), интерлейкин 10 (**H**) и интерлейкин 8 (**I**). На (**A**)-(**I**), IgG1=иммуноглобулин G1; IL=интерлейкин; МКПК=мононуклеарные клетки периферической крови. (**J**) Краткий обзор данных по высвобождению цитокинов из клеток, обработанных SIRPAB-11-K322A, и соответствующий статистический анализ.

[0075] На **Фиг. 12A-12H** показан профиль высвобождения цитокинов в обработанных SIRPAB-11 МКПК с дополнительной стимуляцией или без нее. (**A**) и (**B**)SIRPAB-11-K322A не индуцировал интерлейкин-1β в мононуклеарных клетках периферической крови при стимуляции липополисахаридом (**B**)или без нее (**A**). На (**A**) и (**B**), IgG1=иммуноглобулин G1; IL-1β=Интерлейкин 1β; ЛПС=липополисахарид; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala. (**C**)Подробные результаты от (**A**) и (**B**). (**D**), (**E**) и (**F**) Обработка SIRPAB-11-K322A не изменяла уровень интерферона γ в мононуклеарных клетках периферической крови при стимуляции 1 нг/мл (**E**), 100 нг/мл (**F**)или без стимуляции (**D**) стафилококковым энтеротоксином b. На (**D**), (**E**) и (**F**), IgG1=иммуноглобулин G1; ИФН-γ=интерферон гамма; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; SEB=стафилококковый энтеротоксин B. (**G**) и (**H**) Подробные результаты от

(E) и **(F)**, соответственно.

[0076] На **Фиг. 13A-13I** показана активность SIRPAB-11 в увеличении фагоцитоза опухоли как отдельно, так и в комбинации со вторым антителом**.** **(A)**-**(C)** Поверхностные уровни SIRPα **(A)**, CD47 **(B)** и EGFR **(C)**четырех клеточных линий колоректального рака, устойчивых к цетуксимабу и мутантных по KRAS, при окрашивании SIRPAB-11- IgG4PE, антителом к CD47 и антителом к EGFR. **(D)-(F)**Оценка фагоцитоза опухоли, опосредованного SIRPAB-11-K322A отдельно или в комбинации с цетуксимабом, в четырех клеточных линиях колоректального рака с мутацией KRAS, включая GP5d **(D)**, GP2d **(E)** и SW480 **(F)**. На **(D)-(F)**, CD=кластер дифференциации; IgG1= иммуноглобулин G1; K322A=иммуноглобулин G1 с мутацией лизина на аланин в положении 322. **(G)** и **(H)** Влияние концентрации цетуксимаба на фагоцитоз клеточных линий KRAS-мутантного колоректального рака GP2d **(G)** и GP5d **(H)**. **(I)** Оценка фагоцитоза плоскоклеточной карциномы головы и шеи FaDu, опосредованного SIRPAB-11-K322A в сочетании с цетуксимабом. CD=кластер дифференциации; FaDu=клеточная линия плоскоклеточной карциномы головы и шеи; IgG1=иммуноглобулин G1.

[0077] На **Фиг. 14** показана оценка фагоцитоза клеток DLBCL, опосредованного SIRPAB-11-K322A в комбинации с ритуксимабом или SIRPAB-11-4PE в комбинации с ритуксимабом. IgG1=иммуноглобулин G1; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; OCI-LY3=клеточная линия DLBCL.

[0078] На **Фиг. 15A-15F** показано влияние вариантов Fc SIRPAB-11 в качестве единственного средства на фагоцитоз клеток человека и влияние вариантов Fc SIRPAB-11 на фагоцитоз макрофагами мыши или яванского макака. **(A)** Влияние SIRPAB-11-K322A и SIRPAB-11-IgG4PE в качестве единственного средства на повышение активности фагоцитоза, направленного на клеточную линию острого миелоидного лейкоза MOLM-13. **(B)** Влияние SIRPAB-11-K322A и SIRPAB-11-IgG4PE в качестве единственного средства на повышение активности фагоцитоза, направленного на клеточную линию острого миелоидного лейкоза OCI-AML2. **(C)** Влияние SIRPAB-11-K322A и SIRPAB-11-IgG4PE в качестве единственного средства на повышение активности фагоцитоза, направленного на клеточную линию острого миелоидного лейкоза MV-4-11. **(D)** Влияние SIRPAB-11-K322A и SIRPAB-11-IgG4PE в качестве единственного средства на повышение активности фагоцитоза, направленного на острый миелоидный лейкоз, полученный из ксенотрансплантата пациента P1202. **(E)** Влияние SIRPAB-11-K322A и SIRPAB-11-IgG4PE в качестве единственного средства на повышение активности фагоцитоза, направленного на острый миелоидный лейкоз, полученный из ксенотрансплантата пациента P5478. На **(A)**-**(E)**, CD=кластер дифференциации; IgG=иммуноглобулин G1; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; 4PE=иммуноглобулин G4 с мутациями Ser228Pro и Leu235Glu; OCI-AML2=клеточная линия острого миелоидного лейкоза (AML). **(F)** Влияние SIRPAB-11-K322A в качестве единственного средства на повышение активности фагоцитоза макрофагами яванского макака, нацеленными на клеточную линию острого миелоидного лейкоза OCI-AML2. CD=кластер дифференциации; Ч=час;

IgG=иммуноглобулин G1; K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; НС=несущественно.

[0079] На **Фиг. 16A-16C** показана поверхностная экспрессия (**A**) SIRPα, (**B**) CD20 и (**C**) CD47 в клетках OCI-LY3, RIVA, Karpas 422 и Pfeiffer. На **Фиг. 16A-16C**, AF647=Alexa Fluor 647; Geo MFI=средняя геометрическая интенсивность флуоресценции; IgG1=иммуноглобулин G1; и RSV=респираторно-синцитиальный вирус.

[0080] На **Фиг. 17A-17C** показаны дополнительные исследования фагоцитоза 3 клеток DLBCL, опосредованного SIRPAB-11-K322A в комбинации с ритуксимабом. Изображены эффекты SIRPAB-11-K322A в качестве единственного средства или в комбинации с ритуксимабом в стимулировании активности фагоцитоза, направленного на (**A**) клетки OCI-LY3**,** (**B**)клетки RIVA и (**C**) клетки Karpas 422. IgG1 K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; нМ=наномоль; RSV=респираторно-синцитиальный вирус.

[0081] На **Фиг. 18A-18D** показаны дополнительные исследования фагоцитоза клеток Pfeiffer, опосредованного SIRPAB-11-K322A в комбинации с ритуксимабом. Изображены эффекты SIRPAB-11-K322A в качестве единственного средства или в комбинации с ритуксимабом в повышении активности фагоцитоза в отношении клеток Pfeiffer с использованием макрофагов от (**A**) донора 1**,** (**B**)донора 2, (**C**)донора 3 и (**D**) донора 4. IgG1 K322A=иммуноглобулин G1 с Lys322Ala; нМ=наномоль; RSV=респираторно-синцитиальный вирус.

[0082] На **Фиг. 19A-19B** показа схема и валидация анализа на занятость рецептора SIRPα. (**A**) Схематическое изображение анализа на занятость рецептора SIRPα, как описано в разделе 5.13. (**B**) Точечные графики FACS, показывающие валидацию анализа, с окрашиванием SIRPAB-11-K322A показаны на верхнем левом графике, окрашивание анти-SIRPα-29 показано на верхнем правом графике, иллюстративный точечный график отсутствия рецептора показан на нижнем левом графике, и иллюстративный точечный график полной занятости рецептора показан на нижнем правом графике.

4. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0083] В настоящем документе предложены связывающие белки, такие как антитела, которые связывают SIRPα, включая SIRPα человека и/или макака. В некоторых вариантах осуществления связывающие белки, предложенные в настоящем документе, такие как антитела, которые связываются с SIRPα человека и/или яванского макака (макака), не связываются с SIRPα грызуна. В определенных вариантах осуществления SIRPα-связывающие белки, включая описанные в данном документе антитела, являются антагонистами (*например*, могут блокировать связывание лиганда SIRPα и блокировать лиганд-индуцированную передачу сигнала SIRPα). В некоторых вариантах осуществления связывающие белки, такие как антитела к SIRPα, предложенные в настоящем документе (i), связываются с SIRPα человека и/или макака, (ii), конкурируют за связывание с лигандом SIRPα (*например*, CD47) и/или (iii) блокируют передачу сигнала SIRPα. В одном варианте осуществления антитела к SIRPα связываются с SIRPα человека. В одном варианте осуществления антитела к SIRPα связываются с SIRPα макака. В одном варианте

осуществления антитела к SIRPα связывают как с SIRPα человека, так и с SIRPα макака. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα конкурируют с CD47 за связывание с SIRPα. В других вариантах осуществления антитела к SIRPα блокируют передачу сигнала SIRPα. В еще одном варианте осуществления антитела к SIRPα блокируют передачу сигнала SIRPα, которая индуцируется CD47.

[0084] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα, предложенные в настоящем документе, связываются как с SIRPα человека, так и с SIRPα макака. В конкретных вариантах осуществления антитела к SIRPα, предложенные в настоящем документе, связываются с каждым из по меньшей мере 6 гаплотипов SIRPα, включая SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6. В других конкретных вариантах осуществления антитела к SIRPα, предложенные в настоящем документе, связываются по меньшей мере с одним из 6 гаплотипов SIRPα, включая SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6. В другом конкретном варианте осуществления антитела к SIRPα, предложенные в настоящем документе, связываются с гаплотипами SIRPα в домене IgV, охватывающем не менее 95% полиморфизма SIRPα в человеческой популяции. В некоторых вариантах осуществления связывание, конкурирование и/или передачу сигнала оценивают in vitro, *например*, в клеточном анализе. В других вариантах осуществления связывание, конкурирование и/или передачу сигнала оценивают ex vivo, *например*, в анализе фагоцитоза макрофагами. В других вариантах осуществления связывание, конкурирование и/или сигнализацию оценивают, используя образец от субъекта (*например*, субъекта-человека). В определенных вариантах осуществления анализы включают (1) анализ фагоцитоза макрофагами человека или макака (*см., например*, Пример 9); (2) клеточный конкурентно-связывающий анализ (*см., например*, Пример 2); (3) конкурентно-связывающий анализ с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР) (*см., например*, Пример 2). В определенных вариантах осуществления связывающие белки, такие как антитела к SIRPα, описанные в данном документе, блокируют активность CD47, которая согласуется с природной биологической функцией CD47, включая активность, вызванную связыванием CD47 и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления блокирующая активность антител к SIRPα проявляется in vitro. В других вариантах осуществления блокирующая активность антител к SIRPα проявляется ex vivo.

[0085] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к SIRPα индуцирует не превышающий или индуцирует сопоставимый уровень цитокинов (*например* IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12P70, TNFα, интерферон гамма и гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор) по сравнению с антителом отрицательного изотипического контроля. В некоторых конкретных вариантах осуществления уровень цитокинов (*например* IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNFα, интерферон гамма и гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор), индуцированный антителами к SIRPα, предложенными в настоящем документе, находятся в пределах 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 кратных значений уровней цитокинов,

индуцированных антителом отрицательного изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело отрицательного изотипического контроля представляет собой цетуксимаб.

[0086] В некоторых вариантах осуществления связывающие белки, такие как антитела, которые связывают с SIRPα, предложенные в настоящем документе, усиливают фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами, и/или увеличивают процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов, совместно культивированных с раковыми клетками. В других вариантах осуществления связывающие белки, такие как антитела, которые связывают с SIRPα, предложенные в настоящем документе, усиливают фагоцитоз раковых клеток макрофагами у субъекта и/или увеличивают процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов у субъекта, имеющего рак.

[0087] В конкретных вариантах осуществления связывающие белки, такие как антитела, которые связывают с SIRPα, предложенные в настоящем документе, обладают общим признаком конкурирования друг с другом за связывание с SIRPα. Это конкурентное ингибирование может указывать на то, что каждое антитело связывается с одной и той же областью SIRPα (*например*, одним и тем же эпитопом), проявляя, таким образом, аналогичное действие. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα, предложенные в настоящем документе, включают антитела к SIRPα человека, такие как SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10, SIRPAB-11, SIRPAB-12 или SIRPAB-13, или антитела, полученные или созданные на основе этих антител. В других вариантах осуществления антитела к SIRPα, предложенные в настоящем документе, конкурирующие за связывание с антителом, которое представляет собой, получено из или создано на основе SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10, SIRPAB-11, SIRPAB-12 или SIRPAB-13. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα имеют последовательности CDR, описанные в **таблицах 1-2**. В определенных вариантах осуществления антитела к SIRPα связываются с конкретным доменом или эпитопом SIRPα человека (*например*, остатками 67-98, 67-74, 93-98 или 30-93 SEQ ID NO:146; *см.* Пример 3). Кроме того, такое связывание может быть в значительной степени обусловлено конкретными аминокислотными остатками в пределах этой области (*например*, T67, R69, R95, K96 и S98; *см.* Пример 3), которые составляют эпитоп, распознаваемый антителами к SIRPα, описанными в данном документе. Вместе описанные в данном документе результаты демонстрируют, что эффекты, наблюдаемые для антитела к SIRPα, которое представляет собой, получено из или создано на основе SIRPAB-11, включая антитело, имеющее одну или более CDR, описанных в **таблицах 1-2**, можно экстраполировать на другие антитела к SIRPα, описанные в данном документе, имеющие такую же или сходную эпитопную специфичность (*например*, такие же или сходные CDR). Например, активность антител, как показано в Примерах 2, 3, 9, 10, 11 и 12 для типового гуманизированного антитела к

SIRPα, является репрезентативной для активности и эффекта антител к SIRPα, описанных в данном документе.

[0088] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения связывающие белки, такие как антитела к SIRPα, могут содержать вариабельные области иммуноглобулина, которые содержат одну или более CDR, описанных в таблицах 1-2. В таких связывающих белках (*например*, антителах к SIRPα) CDR могут быть соединены одной или более остовными или каркасными областями (FR), которые ориентируют CDR так, чтобы обеспечить надлежащие антигенсвязывающие свойства CDR. Такие связывающие белки, включая антитела к SIRPα, как описано в данном документе, могут блокировать или ингибировать связывание CD47 с SIRPα и CD47-индуцированную передачу сигнала SIRPα.

4.1 **Общие методики**

[0089] Методы и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, включают те, которые в целом хорошо понятны и/или обычно используются специалистами в данной области с использованием традиционной методологии, например, широко используемые методологии, описанные в Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3d ed. 2001); Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 2003); Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed. 2009); Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols (Albitar ed. 2010); и Antibody Engineering Vols 1 and 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010).

4.2 **Терминология**

[0090] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области. Для целей интерпретации этого описания будет применяться следующее описание терминов, и, когда это уместно, термины, используемые в единственном числе, также будут включать множественное число, и наоборот. Все патенты, заявки, опубликованные заявки и другие публикации в полном объеме включены посредством ссылки. В случае, когда какое-либо из приведенных описаний терминов противоречит любому документу, включенному в данный посредством ссылки, приоритет имеет описание термина, приведенное ниже.

[0091] Термины «SIRPa», «SIRPα», «Белок SIRPα», «полипептид SIRPα», «SIRPA», «SIRP-A», «SIRP-альфа» или «SIRP-альфа» (также известные как BIT, MFR, MYD1, P84, PTPNS1, SHPS1, CD172a) предназначены для обозначения полипептида («полипептид» и «белок» используются в данном документе взаимозаменяемо), который является членом семейства иммуноглобулиноподобных белков (Ig-подобных) и который у людей кодируется геном сигнального регуляторного белка альфа на хромосоме человека 20p13. Примеры SIRPα включают любой такой нативный полипептид из любого позвоночного источника, относящегося к позвоночным, включая млекопитающих, таких как приматы (*например*, люди и яванские макаки (макаки)), собаки и грызуны (*например*, мыши и крысы), если не указано иное. В определенных вариантах осуществления эти термины

включают «родственные полипептиды SIRPα», включая их ОНП-варианты. Термин «SIRPα» также включает «полноразмерный» непроцессированный SIRPα, а также любую форму SIRPα, которая получается в результате процессинга в клетке. В некоторых вариантах осуществления SIRPα человека имеет аминокислотную последовательность EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRV TTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPSA PVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIH STAKVVLTREDVHSQVICEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQV NVTCQVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSWLLVNVSAHRD DVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNTAAENTGSNERNIYIVVGVVCTLL VALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQDTNDITYADLNLPKGKKPAP QAAEPNNHTEYASIQTSPQPASEDTLTYADLDMVHLNRTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVP RK (SEQ ID NO:146). В других вариантах осуществления SIRPα имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145, которая является SEQ ID NO: 146 с типичным сигнальным пептидом. Другие иллюстративные аминокислотные последовательности SIRPα предложены в эталонных последовательностях NCBI NP_001035111.1, NP_001035112.1, NP_001317657.1, NP_542970.1, XP_005260727.1, XP_024307604.1, XP_006723608.1 и XP_011527475.1, и UniProtKB: P78324. Иллюстративные последовательности нуклеиновой кислоты SIRPα человека предложены под номером доступа GENBANK 140885, в эталонных последовательностях NCBI NM_001040022.1, NM_001040023.1, NM_001330728.1, NM_080792.2, XM_005260670.3, XM_024451836.1, XM_006723545.4 и XM_011529173.2. В некоторых вариантах осуществления SIRPα яванского макака содержит или имеет аминокислотную последовательность MEPAGPAPGRLGPLLCLLLTASCAWSGVLGEEELQVIQPEKSVSVAAGESATLNCTATS LIPVGPIQWFRGVGPGRELIYSQKEGHFPRVTPVSDPTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYY CVKFRKGSPDVELKSGAGTELSVRAKPSAPVVSGPAVRATAEHTVSFTCESHGFSPRDIT LKWFKNGNELSDFQTNVDPAGKSVSYSIRSTARVVLTRRDVHSQVICEVAHVTLQGDPL RGTANLSEAIRVPPFLEVTQQSMRADNQVNVTCQVTKFYPQRLQLTWLENGNVSRTEM ASALPENKDGTYNWTSWLLVNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVNKSFSVKVSAHPKE QGSNTAAENTGTNERNIY (SEQ ID NO:115). В некоторых вариантах осуществления SIRPα мыши содержит или имеет аминокислотную последовательность MEPAGPAPGRLGPLLLCLLLSASCFCTGATGKELKVTQPEKSVSVAAGDSTVLNCTLTS LLPVGPIRWYRGVGPSRLLIYSFAGEYVPRIRNVSDTTKRNNMDFSIRISNVTPADAGIYY CVKFQKGSSEPDTEIQSGGGTEVYVLAKPSPPEVSGPADRGIPDQKVNFTCKSHGFSPRNI TLKWFKDGQELHPLETTVNPSGKNVSYNISSTVRVVLNSMDVNSKVICEVAHITLDRSP LRGIANLSNFIRVSPTVKVTQQSPTSMNQVNLTCRAERFYPEDLQLIWLENGNVSRNDTP KNLTKNTDGTYNYTSLFLVNSSAHREDVVFTCQVKHDQQPAITRNHTVLGFAHSSDQG SMQTFPDNNATHNWN (SEQ ID NO:102). В некоторых вариантах осуществления SIRPα мыши представляет собой SIRPα NOD/SCID-мыши, который содержит или имеет аминокислотную последовательность

MEPAGPAPGRLGPLLLCLLLSASCFCTGATRTEVKVIQPEKSVSVAAGDSTVLNCTLTSL
LPVGPIRWYRGVGQSRQLIYSFTTEHFPRVTNVSDATKRSNLDFSIRISNVTPEDAGTYYC
VKFQRGSPDTEIQSGGGTEVYVLAKPSPPEVSGPADRGIPDQKVNFTCKSHGFSPRNITL
KWFKDGQELHPLETTVNPSGKNVSYNISSTVRVVLNSMDVNSKVICEVAHITLDRSPLR
GIANLSNFIRVSPTVKVTQQSPTSMNQVNLTCRAERFYPEDLQLIWLENGNVSRNDTPK
NLTKNTDGTYNYTSLFLVNSSAHREDVVFTCQVKHDQQPAITRNHTVLGFAHSSDQGS
MQTFPDNNATHNWN (SEQ ID NO:100).

[0092] Используемый в данном документе термин «домен IgV», также известный как «Ig-подобный домен V-типа», «V-домен», «N-концевой домен IgSF», «домен 1 SIRPα» или «N-концевой V-домен», при использовании по отношению к SIRPα, предназначен для обозначения полипептида, который в одном полиморфизме человека имеет аминокислотные остатки от 1 до 107 (EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRV TTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG SEQ ID NO:203) SIRPα человека с SEQ ID NO: 146 и который имеет укладку Ig V-типа, и его эквивалента в других полиморфизмах SIRPα человека и других SIRPα из любого источника, относящегося к позвоночным, включая млекопитающих, таких как приматы (*например*, люди и яванские макаки (макаки)), собаки и грызуны (*например*, мыши и крысы), если не указано иное.

[0093] Используемый в данном документе термин «вариант SIRPα» предназначен для обозначения белка SIRPα, содержащего одну или более (например, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10 или от около 1 до около 5) замен, делеций и/или вставок в аминокислотной последовательности по сравнению с нативной или немодифицированной последовательностью. Например, вариант SIRPα может являться результатом одного или более (например, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10 или от около 1 до около 5) изменений в аминокислотной последовательности нативного SIRPα. Варианты SIRPα включают встречающиеся в природе варианты SIRPα, включая аллельные варианты (*например*, варианты ОНП); варианты сплайсинга; фрагменты; и межвидовые гомологи, которые сохраняют активность SIRPα. По существу, варианты SIRPα также включают SIRPα, кодируемый геном SIRPα, включая один или более однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП, англ.: single nucleotide polymorphisms) у человека или других видов, и «гаплотип SIRPα». «Гаплотип SIRPα» относится к варианту SIRPα, имеющему ОНП, которые, как правило, наследуются вместе. Таким образом, «гаплотип SIRPα» представляет собой полиморфизм типа SIRPα и может включать комбинацию любого набора однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), обнаруженных в гене SIRPα, при этом набор ОНП обычно наследуется вместе. Специалистам в данной области будет понятно, что антитело к SIRPα, предложенное в настоящем документе, может связываться с вариантом SIRPα, включая гаплотип SIRPα. Как описано ниже, 6 гаплотипов SIRPα в домене IgV SIRPα, включая SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4,

SIRPα v5 и SIRPα v6, составляют 95% полиморфизмов в CD47-связывающих областях SIRPα в человеческой популяции. Эти 6 гаплотипов SIRPα, SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6 в домене IgV содержат аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154, соответственно, как показано в Таблице 5. **Таблица 5:** Гаплотипы в домене IgV SIRPα на связывающей поверхности SIRPα/CD47

Гаплотипы в домене IgV SIRPα на связывающей поверхности SIRPα/CD47	**Последовательности**
SIRPα v1	RELIYNQKEGHFPRVTTVS**DL**TKR**N**NMDFS I (SEQ ID NO:149)
SIRPα v2	RELIYNQKEGHFPRVTTVS**ES**TKR**E**NMDFSI (SEQ ID NO:150)
SIRPα v3	RELIYNQKEGHFPRVTTVS**DL**TKR**E**NMDFSI (SEQ ID NO:151)
SIRPα v4	RELIYNQKEGHFPRVTTVS**ES**TKR**K**NMDFSI (SEQ ID NO:152)
SIRPα v5	RELIYNQKEGHFPRVTTVS**EP**TKR**N**NMDFSI (SEQ ID NO:153)
SIRPα v6	RELIYNQKEGHFPRVTTVS**EL**TKR**E**NMDFSI (SEQ ID NO:154)

[0094] «Родственные полипептиды SIRPα » включают аллельные варианты (*например*, варианты ОНП); сплайс-варианты; фрагменты; производные; варианты, содержащие замены, делеции и вставки; слитые полипептиды; и межвидовые гомологи, которые могут сохранять активность SIRPα. Как понятно специалистам в данной области техники, предложенное в данном документе антитело к SIRPα может связываться с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα, антигеном SIRPα и/или эпитопом SIRPα. «Эпитоп» может быть частью большего антигена SIRPα, который может быть частью большего фрагмента полипептида SIRPα, который, в свою очередь, может быть частью большего полипептида SIRPα. SIRPα может существовать в нативной или денатурированной форме. Описанные в данном документе полипептиды SIRPα могут быть выделены из различных источников, например, из разных типов тканей человека, или из другого источника, или получены рекомбинантными или синтетическими способами. Ортологи полипептида SIRPα также хорошо известны в данной области техники.

[0095] Примерные последовательности внеклеточного домена SIRPα, которые

содержат один из 6 гаплотипов SIRPα (SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 или SIRPα v6), показаны в Таблице 6 ниже.

Таблица 6:Типичные последовательности внеклеточного домена SIRPα, содержащие один из 6 гаплотипов SIRPα.

Последовательности внеклеточного домена SIRPα	**Последовательности**
SIRPα1	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPDKSVLV AAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVRAKPSAPVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITL KWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVI CEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVT CQVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSW LLVNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSN TAAENTGSNERNIY (SEQ ID NO:101)
SIRPα2	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPDKSVSV AAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVT TVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGA GTELSVRAKPSAPVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITLKW FKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVICE VAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVTCQ VRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSWLL VNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNT AAENTGSNERNIY (SEQ ID NO:103)
SIRPα3	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPDKSVLV AAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRENMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPSAPVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITLK WFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVIC EVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSWL LVNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNT AAENTGSNERNIY (SEQ ID NO:105)

SIRPα4	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPDKSVLV AAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSESTKRKNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPSAPVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITLK WFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVIC EVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSWL LVNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNT AAENTGSNERNIY (SEQ ID NO:93)
SIRPα5	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPDKSVLV AAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSEPTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPSAPVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITLK WFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVIC EVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSWL LVNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNT AAENTGSNERNIY (SEQ ID NO:95)
SIRPα6	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPDKSVLV AAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSELTKRENMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPSAPVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDITLK WFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVIC EVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMSWL LVNVSAHRDDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNT AAENTGSNERNIY (SEQ ID NO:97)

[0096] Термин «SIRPAB-11-K322A» относится к варианту SIRPAB-11, имеющему замену K322A в Fc-области IgG1. В некоторых вариантах осуществления вариант SIRPα с K322A имеет аминокислотную последовательность тяжелой цепи HC_SIRPα-K322A (SEQ ID NO: 119).

[0097] Термин «SIRPAB-11-AAS» относится к варианту SIRPAB-11, имеющему Fc-область с AAS IgG1. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к SIRPα имеет аминокислотною последовательность тяжелой цепи HC_SIRPAB-11-IgG1-AAS (SEQ ID NO: 98).

[0098] Термин «SIRPAB-11-4PE» относится к варианту SIRPAB-11, имеющему

аминокислотную последовательность тяжелой цепи IgG4PE как HC_SIRPAB-11-IGG4PE (SEQ ID NO: 120).

[0099] Термин «лиганд SIRPα» относится к молекуле, которая связывается с SIRPα, *например*, in vivo или in vitro. Неограничивающие примеры лиганда SIRPα включают в себя природные лиганды, *например*, CD47, и искусственно созданные лиганды.

[00100] Термин «CD47», также известный как «белок, связанный с интегрином», «IAP» (англ.: integrin associated protein) или «кластер дифференциации 47», предназначен для обозначения трансмембранного белка, который принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов и который у человека кодируется геном CD47 на хромосоме 3 человека. Примеры CD47 включают любой такой нативный полипептид из любого источника, относящегося к позвоночным, включая млекопитающих, таких как приматы (*например*, люди и яванские макаки (макаки)), собаки и грызуны (*например*, мыши и крысы), если не указано иное. В некоторых вариантах осуществления термин включает в себя все природные варианты CD47, включая аллельные варианты (*например*, варианты ОНП); варианты сплайсинга; фрагменты; и производные. Термин «CD47» также включает «полноразмерный» непроцессированный CD47, а также любую форму CD47, которая получается в результате процессинга в клетке. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен CD47имеет аминокислотную последовательность MYRMQLLSCIALSLALVTNSQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVTNMEAQNTTEVYVK WKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCE VTELTREGETIIELKYRVV (SEQ ID NO:116). Другие иллюстративные аминокислотные последовательности CD47 предложены в эталонных последовательностях NCBI NP_001768.1, NP_942088.1, XP_005247966.1, XP_005247965.1, и XP_016863025.1, и базе данных Uniprot UniProtKB-Q08722. Иллюстративные последовательности нуклеиновой кислоты CD47 человека предложены под номером ID 961 в GenBank™, в эталонных последовательностях NCBI NM_001777.3, NM_198793.2, XM_005247909.2, XM_005247908.2, и XM_017007536.1.

[00101] Используемый в данном документе термин «антагонист», когда он используется в отношении SIRPα или функции SIRPα, предназначен для обозначения молекулы, которая способна ингибировать, уменьшать, ослаблять, уменьшать или иным образом полностью блокировать одну или более биологических активностей или функций SIRPα. Антагонист функции SIRPα включает молекулу, которая может блокировать, ингибировать, ослаблять или уменьшать SIRPα-опосредованную или SIRPα-зависимую передачу сигнала в клетке, экспрессирующей SIRPα. Антагонист функции SIRPα также включает молекулу, которая может блокировать, ингибировать, ослаблять или уменьшать передачу сигнала SIRPα, включая передачу сигнала ниже по рамке считывания, индуцированную лигированием или взаимодействием между SIRPα и CD47. В некоторых примерах антагонист SIRPα дополнительно включает молекулы, которые могут блокировать, ингибировать, ослаблять или уменьшать связывание SIRPα с природной молекулой, связывающей SIRPα. В других примерах антагонист SIRPα дополнительно

включает молекулы, которые могут блокировать, ингибировать или уменьшать связывание SIRPα с лигандом SIRPα, таким как CD47. «Антагонист» SIRPα является «антагонистическим» к SIRPα или функции SIRPα. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе предложены антагонистические антитела к SIRPα или их фрагменты.

[00102] «Блокирующее» антитело, «нейтрализующее» антитело или «антагонистическое» антитело при использовании в отношении SIRPα или функции SIRPα означает антитело, которое связывается с SIRPα и действует как антагонист по отношению к SIRPα или активности или функции SIRPα. Например, блокирующие антитела или антитела-антагонисты могут в значительной степени или полностью ингибировать биологическую активность SIRPα или связывание CD47 с SIRPα. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе предложены блокирующие антитела к SIRPα или их фрагменты.

[00103] Термин «связывающий белок» относится к белку, содержащему часть (*например*, одну или более связывающих областей, таких как CDR), которая связывается с SIRPα, включая SIRPα человека и/или макака, необязательно, остовную или каркасную часть (*например*, одну или более остовных или каркасных областей), которая позволяет связывающей части принимать конформацию, которая стимулирует связывание связывающего белка с полипептидом, фрагментом или эпитопом SIRPα. Примеры таких связывающих белков включают антитела, такие как человеческое антитело, гуманизированное антитело, химерное антитело, рекомбинантное антитело, одноцепочечное антитело, диатело, триатело, тетратело, фрагмент Fab, фрагмент $F(ab')_2$, антитело IgD, антитело IgE, антитело IgM, антитело IgG1, антитело IgG2, антитело IgG3 или антитело IgG4, а также их фрагменты. Связывающий белок может содержать, например, альтернативный белковый остов или искусственный остов с привитыми CDR или производными CDR. Такие остовы включают, но не ограничиваются этим, полученные из антител остовы, содержащие мутации, введенные, например, чтобы стабилизировать трехмерную структуру связывающего белка, а также полностью синтетические остовы, содержащие, например, биосовместимый полимер. *См.*, *например*, Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 53(1):121-29; и Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-54. Помимо этого можно использовать пептидные миметики антител («ПМА»), а также остовы на основе миметиков антител, в которых в качестве остова используются компоненты фибронектина. В контексте настоящего изобретения говорят, что связывающий белок специфически связывается или избирательно связывается с SIRPα, например, если константа диссоциации ($K_Д$) составляет $\leq 10^{-7}$ М. В некоторых вариантах осуществления связывающие белки (*например*, антитела) могут специфически связываться с SIRPα с $K_Д$ от около 10^{-7} М до около 10^{-12} М. В определенных вариантах осуществления связывающий белок (*например*, антитело) может специфически связываться с SIRPα с высокой аффинностью, если $K_Д$ составляет $\leq 10^{-8}$ М или $K_Д$ составляет $\leq 10^{-9}$ М. В одном варианте осуществления

связывающие белки (*например*, антитела) могут специфически связываться с очищенным SIRPα человека с $K_Д$ от 1×10^{-9} М до 10×10^{-9} М по измерениям Biacore®. В другом варианте осуществления связывающие белки (*например*, антитела) могут специфически связываться с очищенным SIRPα человека с $K_Д$ от $0,1\times10^{-9}$ М до 1×10^{-9} М по измерениям KinExA™ (Sapidyne, Boise, ID). В другом варианте осуществления связывающие белки (*например*, антитела) специфически связываются с человеческим SIRPα, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$ от $0,1\times10^{-9}$ М до 10×10^{-9} М. В определенных вариантах осуществления связывающие белки (*например*, антитела) специфически связываются с человеческим SIRPα, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$ от $0,1\times10^{-9}$ М до 1×10^{-9} М. В некоторых вариантах осуществления связывающие белки (*например*, антитела) специфически связываются с человеческим SIRPα, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$ от 1×10^{-9} М до 10×10^{-9} М. В определенных вариантах осуществления связывающие белки (*например*, антитела) специфически связываются с человеческим SIRPα, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$, равной около $0,1\times10^{-9}$ М , около $0,5\times10^{-9}$ М, около 1×10^{-9} М, около 5×10^{-9} М, около 10×10^{-9} М, или любому их диапазону или интервалу. В другом варианте осуществления связывающие белки (*например*, антитела) могут специфически связываться с SIRPα макака, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$ от $0,1\times10^{-9}$ М до 10×10^{-9} М. В определенных вариантах осуществления связывающие белки (*например*, антитела) специфически связываются с SIRPα макака, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$ от $0,1\times10^{-9}$ М до 1×10^{-9} М. В некоторых вариантах осуществления связывающие белки (*например*, антитела) специфически связываются с SIRPα макака, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$ от 1×10^{-9} М до 10×10^{-9} М. В определенных вариантах осуществления связывающие белки (*например*, антитела) специфически связываются с SIRPα макака, экспрессируемым на клетках, с $K_Д$, равной около $0,1\times10^{-9}$ М, около $0,5\times10^{-9}$ М, около 1×10^{-9} М, около 5×10^{-9} М, около 10×10^{-9} М, или любому их диапазону или интервалу.

[00104] Термины «антитело», «иммуноглобулин» или «Ig» взаимозаменяемо употребляются в данном документе и используются в самом широком смысле и, в частности, включают, например, отдельные моноклональные антитела к SIRPα (включая агонистические, антагонистические, нейтрализующие антитела, полноразмерные или интактные моноклональные антитела), композиции антител к SIRPα с полиэпитопной или моноэпитопной специфичностью, поликлональные или моновалентные антитела, поливалентные антитела, мультиспецифические антитела (*например*, биспецифические антитела при условии, что они проявляют необходимую биологическую активность), образованные по меньшей мере из двух интактных антител, одноцепочечные антитела к SIRPα и фрагменты антител к SIRPα, описанные ниже. Антитело может быть человеческим, гуманизированным, химерным и/или иметь созревшую аффинность, а также антителом других видов, например, мышиным и кроличьим, и *т. д.* Подразумевается, что термин «антитело» включает полипептидный продукт В-клеток в рамках иммуноглобулинового класса полипептидов, который способен связываться с конкретным молекулярным антигеном и состоит из двух идентичных пар полипептидных

цепей, где каждая пара содержит одну тяжелую цепь (около 50-70 кДа) и одну легкую цепь (около 25 кДа), каждая амино-концевая часть каждой цепи содержит вариабельную область от около 100 до около 130 или более аминокислот, а каждая карбокси-концевая часть содержит константную область. *См.*, *например*, Antibody Engineering (Borrebaeck ed., 2d ed. 1995); и Kuby, Immunology (3d ed. 1997). В конкретных вариантах осуществления конкретный молекулярный антиген может связываться предложенным в данном документе антителом, включая полипептид SIRPα, фрагмент SIRPα или эпитоп SIRPα. Антитела также включают, но не ограничиваются этим, синтетические антитела, рекомбинантно полученные антитела, верблюдизированные антитела, интратела, анти-идиотипические (анти-Id) антитела и функциональные фрагменты (*например*, антигенсвязывающие фрагменты, такие как SIRPα-связывающие фрагменты) любых из вышеперечисленных антител, что относится к части полипептида тяжелой или легкой цепи антитела, которая сохраняет некоторую часть или всю активность связывания антитела, из которого был получен фрагмент. Неограничивающие примеры функциональных фрагментов (*например*, антигенсвязывающих фрагментов, таких как SIRPα-связывающие фрагменты) включают одноцепочечные Fv (scFv) (*например*, включая моноспецифические, биспецифические *и т. д.*), фрагменты Fab, фрагменты F(ab'), фрагменты $F(ab)_2$, фрагменты $F(ab')_2$, дисульфид-связанные Fv (dsFv), фрагменты Fd, фрагменты Fv, диатело, триатело, тетратело и минитело. В частности, предложенные в данном документе антитела включают молекулы иммуноглобулина и иммунологически активные части молекул иммуноглобулина, например, антигенсвязывающие домены или молекулы, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который связывается с SIRPα (*например*, одна или более CDR антитела к SIRPα). Такие фрагменты антитела можно найти, например, в Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989); Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers ed., 1995); Huston et al., 1993, Cell Biophysics 22:189-224; Plückthun and Skerra, 1989, Meth. Enzymol. 178:497-515; и Day, Advanced Immunochemistry (2d ed. 1990). Предложенные в данном документе антитела могут принадлежать любому классу (*например*, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или любому подклассу (*например*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) молекул иммуноглобулина. Антитела к SIRPα могут быть агонистическими антителами или антагонистическими антителами. В настоящем документе предложены антагонистические антитела к SIRPα, включая антитела, которые уменьшают или блокируют передачу сигнала SIRPα, и/или блокируют или уменьшают связывание между CD47 и SIRPα.

[00105] «Антиген» представляет собой заданный антиген, с которым антитело может избирательно связываться. Целевой антиген может представлять собой полипептид, углевод, нуклеиновую кислоту, липид, гаптен или другое природное или синтетическое соединение. В некоторых вариантах осуществления целевой антиген представляет собой полипептид.

[00106] Термины «антигенсвязывающий фрагмент», «антигенсвязывающий домен», «антигенсвязывающая область» и подобные термины относятся к той части

антитела, которая содержит аминокислотные остатки, которые взаимодействуют с антигеном и обеспечивают связывающему агенту его специфичность и аффинность к антигену (*например*, CDR).

[00107] Термины «связывается» или «связывание» относятся к взаимодействию между молекулами, включая, например, образование комплекса. Взаимодействия могут быть, например, нековалентными взаимодействиями, включая водородные связи, ионные связи, гидрофобные взаимодействия и/или ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Комплекс также может включать связывание двух или более молекул, удерживаемых вместе ковалентными или нековалентными связями, взаимодействиями или силами. Сила общих нековалентных взаимодействий между одним антигенсвязывающим сайтом на антителе и одним эпитопом целевой молекулы, такой как SIRPα, представляет аффинность антитела или функционального фрагмента к этому эпитопу. Отношение скорости диссоциации ($k_{дисс}$) к скорости ассоциации ($k_{асс}$) антитела в отношении моновалентного антигена ($k_{дисс}/k_{асс}$) представляет собой константу диссоциации $K_Д$, которая обратно пропорциональна аффинности. Чем меньше $K_Д$, тем больше аффинность антитела. Значение $K_Д$ варьируется для разных комплексов антитела и антигена и зависит как от $k_{асс}$, так и от $k_{дисс}$. Константа диссоциации $K_Д$ для антитела, представленного в настоящем документе, может быть определена с использованием любого метода, предоставленного в настоящем документе, или любого другого метода, хорошо известного специалистам в данной области техники. Аффинность в одном сайте связывания не всегда отражает истинную силу взаимодействия между антителом и антигеном. Когда комплексные антигены, содержащие множество повторяющихся антигенных детерминант, такие как поливалентный SIRPα, вступают в контакт с антителами, содержащими множество сайтов связывания, взаимодействие антитела с антигеном в одном сайте будет повышать вероятность реакции во втором сайте. Сила таких множественных взаимодействия между поливалентным антителом и антигеном называется авидностью. Авидность антитела может быть лучшим показателем его связывающей способности, чем аффинность отдельных сайтов связывания. Например, высокая авидность может компенсировать низкую аффинность, что иногда наблюдается в случае пентамерных антител IgM, которые могут иметь более низкую аффинность, чем IgG, но высокая авидность IgM, являющаяся результатом его мультивалентности, обеспечивает возможность эффективного связывания антигена.

[00108] Термины «антитела, которые специфически связываются с SIRPα», «антитела, которые специфически связываются с эпитопом SIRPα» и аналогичные термины взаимозаменяемо употребляются в данном документе и относятся к антителам, которые специфически связываются с полипептидом SIRPα, таким как антиген SIRPα, или фрагмент, или эпитоп (*например*, SIRPα человека, такой как полипептид, антиген или эпитоп SIRPα человека). Антитело, которое специфически связывается с SIRPα (*например*, SIRPα человека), может связываться с внеклеточным доменом или пептидом, полученным из внеклеточного домена SIRPα. Антитело, которое специфически связывается с SIRPα

(*например*, SIRPα человека), может перекрестно реагировать с родственными антигенами (*например*, SIRPα макака). В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с антигеном SIRPα, перекрестно не реагирует с другими антигенами. Антитело, которое специфически связывается с антигеном SIRPα, можно идентифицировать, например, с помощью иммуноанализов, Biacore® или других методов, известных специалистам в данной области техники. Антитело специфически связывается с антигеном SIRPα, когда оно связывается с антигеном SIRPα с более высокой аффинностью, чем с любым перекрестно-реактивным антигеном, как определено с помощью экспериментальных методов, таких как радиоиммуноанализ (РИА) и иммуноферментный анализ (ИФА). Как правило, специфическая или избирательная реакция будет по меньшей мере вдвое превышать фоновый сигнал или шум, и может более чем в 10 раз превышать фон. Смотрите, *например*, Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2d ed. 1989) в отношении обсуждения, касающегося специфичности антител. Антитело, которое «связывает представляющий интерес антиген» (*например*, целевой антиген, такой как SIRPα) представляет собой антитело, которое связывает антиген с достаточной аффинностью так, что антитело можно применять в качестве лекарственного средства при нацеливании на клетку или ткань, экспрессирующие антиген, и практически не вступает в перекрестную реакцию с другими белками. В таких вариантах осуществления степень связывания антитела с «нецелевым» белком составляет менее чем около 10% от связывания антитела с его конкретным целевым белком, например, по определению в анализе сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS) или РИА. В отношении связывания антитела с целевой молекулой термины «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «является специфическим к» конкретному полипептиду или эпитопу на конкретной полипептидной мишени означают связывание, которое измеряемым образом отличается от неспецифического взаимодействия. Специфическое связывание может быть измерено, например, путем определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая в общем случае представляет собой молекулу сходной структуры, которая не обладает активностью связывания. Например, специфическое связывание может быть определено по конкуренции с контрольной молекулой, сходной с мишенью, например, избытком немеченой мишени. В этом случае связывание считается специфическим, если связывание меченной мишени с зондом конкурентно ингибируется избытком немеченой мишени. Термины «антитело к SIRPα» или «антитело, которое связывается с SIRPα» включают антитело, которое способно связываться SIRPα с достаточной аффинностью так, что антитело можно применять, например, в качестве агента при нацеливании на SIRPα. В контексте данного документа термины «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «является специфическим к» конкретному полипептиду или эпитопу на конкретной полипептидной мишени относятся к связыванию, при котором молекула связывается с конкретным полипептидом или эпитопом на конкретном полипептиде, практически не связываясь с любым другим

полипептидом или полипептидным эпитопом. В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с SIRPα, имеет константу диссоциации ($K_Д$), меньшую или равную 10 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ или 0,1 нМ. В определенных вариантах осуществления антитело к SIRPα связывается с эпитопом SIRPα, который является консервативным для SIRPα от разных видов (*например*, для SIRPα человека и макака). В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα связывается с эпитопом SIRPα, который является областью, которая контактирует с CD47, когда CD47 связан с SIRPα.

[00109] Термин «конкурировать», при применении в контексте антител к SIRPα (*например*, антагонист антител и связывающих белков, которые связываются с SIRPα и конкурируют за один эпитоп или сайт связывания на мишени) означает конкуренцию, определяемую в анализе, в котором исследуемое антитело (или его связывающий фрагмент) предотвращает или ингибирует специфическое связывание эталонной молекулы (*например*, эталонного лиганда или эталонного антигенсвязывающего белка, такого как эталонное антитело) с общим антигеном (*например*, SIRPα или его фрагментом). Для определения, конкурирует ли исследуемое антитело с эталонным антителом за связывание с SIRPα (*например*, SIRPα человека), можно применять многочисленные разновидности анализа конкурентного связывания. Примеры анализов, которые могут быть использованы, включают твердофазный прямой или непрямой РИА, твердофазный прямой или непрямой иммуноферментный анализ (ИФА), конкурентный сэндвич-анализ (*см., например*, Stahli et al., 1983, Methods in Enzymology 9:242-53), твердофазный прямой ИФА с биотином-авидином (*см., например*, Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137:3614-19), твердофазный анализ с прямым мечением, твердофазный сэндвич-анализ прямым мечением (*см., например*, Harlow and Lane, Antibodies, A Laboratory Manual (1988)), твердофазный прямой РИА с мечением с применением метки I-125 (*см., например*, Morel et al., 1988, Mol. Immunol. 25:7-15), и прямой РИА с мечением (Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82). Как правило, такой анализ включает использование очищенного антигена (*например*, SIRPα, такого как SIRPα человека), связанного с твердой поверхностью, или клеток, несущих немеченый исследуемый антигенсвязывающий белок (*например*, исследуемое антитело к SIRPα) или меченный эталонный антигенсвязывающий белок (*например*, эталонное антитело к SIRPα). Конкурентное ингибирование может быть измерено путем определения количества метки, связанной с твердой поверхностью или клетками, в присутствии исследуемого антигенсвязывающего белка. Обычно исследуемый антигенсвязывающий белок присутствует в избытке. Антитела, идентифицируемые в конкурентном анализе (конкурирующие антитела), включают антитела, связывающиеся с тем же эпитопом, что и эталонное антитело, и/или антитела, связывающиеся со смежным эпитопом, расположенным достаточно близко к эпитопу, связываемому эталоном, для появления стерического затруднения для антител. Дополнительные подробности касательно способов определения конкурентного связывания описаны в данном документе. Обычно,

когда белок конкурирующего антитела присутствует в избытке, он будет ингибировать специфическое связывание эталонного антитела с общим антигеном по меньшей мере на 30%, например, на 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В некоторых случаях связывание ингибируется по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более.

[00110] «Выделенное» антитело практически не содержит клеточный материал или другие примесные белки из клеточного или тканевого источника и/или другие примесные компоненты, из которых получено антитело, или практически не содержит химические предшественники или другие химические вещества в случае химического синтеза. Выражение «практически не содержит клеточный материал» включает препараты антитела в которых антитело отделено от клеточных компонентов клеток, из которых оно выделено или рекомбинантно получено. Таким образом, антитело, которое практически не содержит клеточный материал, включает препараты антитела, содержащие менее чем около 30%, 25%, 20%, 15%,10%, 5% или 1% (по сухой массе) гетерологичного белка (также называемого в данном документе «примесным белком»). В определенных вариантах осуществления, в случае рекомбинантного получения антитела оно практически не содержит культуральную среду, *например*, культуральная среда составляет менее чем около 20%, 15%, 10%, 5% или 1% от объема белкового препарата. В определенных вариантах осуществления, в случае получения антитела с помощью химического синтеза оно практически не содержит химические предшественники или другие химические вещества, например, оно отделено от химических предшественников или других химических веществ, которые используются в синтезе белка. Соответственно, такие препараты антитела содержат менее чем около 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или 1% (по сухой массе) химических предшественников или соединений, отличных от представляющего интерес антитела. Примесные компоненты также могут включать, но не ограничиваются этим, материалы, которые могут препятствовать терапевтическим применениям антитела, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В определенных вариантах осуществления антитело очищено (1) более чем до 95% по массе антитела по определению методом Лоури (Lowry et al., 1951, J. Bio. Chem. 193: 265-75), например, 96%, 97%, 98% или 99%, (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N- концевой или внутренней аминокислотной последовательности при применении секвенатора с вращающимся стаканом или (3) до гомогенности по ДСН-ПААГ в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с применением окрашивания синим кумасси или серебром. Выделенное антитело включает антитело in situ в рекомбинантных клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела будет отсутствовать. Обычно, однако, выделенное антитело будет получено с помощью по меньшей мере одного этапа очистки. В конкретных вариантах осуществления предложенные в данном документе антитела являются выделенными.

[00111] 4-цепочечная единица антитела представляет собой гетеротетрамерный

гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. В случае IgG 4-цепочечная единица в целом имеет массу около 150000 дальтон. Каждая L-цепь связана с H-цепью одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две H-цепи связаны друг с другом одной или более дисульфидными связями в зависимости от изотипа H-цепи. Каждая H- и L-цепь также содержит расположенные на равном расстоянии друг от друга внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая H-цепь содержит в N-конце вариабельный домен (VH), за которым следуют три константных домена (CH) в случае каждой из α и γ цепей и четыре CH-домена в случае изотипов μ и ε. Каждая L-цепь содержит в N-конце вариабельный домен (VL), за которым следует константный домен (CL) в другом конце. VL выровнена с VH, а CL выровнена с первым константным доменом тяжелой цепи (CH1). Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют область контакта между вариабельными доменами легкой цепи и тяжелой цепи. Спаривание вместе VH и VL образует один антигенсвязывающий сайт. Информацию по структуре и свойствам разных классов антител смотрите, например, в Basic and Clinical Immunology 71 (Stites et al. eds., 8th ed. 1994).

[00112] Термины «вариабельная область», «вариабельный домен», «V-область» или «V-домен» относятся к части легкой или тяжелой цепей антитела, которая в общем случае расположена в амино-конце легкой или тяжелой цепи и имеет длину от около 120 до 130 аминокислот в тяжелой цепи и от около 100 до 110 аминокислот в легкой цепи, и обуславливает связывание и специфичность каждого конкретного антитела к его конкретному антигену. Вариабельная область тяжелой цепи может называться «VH». Вариабельная область легкой цепи может называться «VL». Термин «вариабельный» относится к тому факту, что определенные сегменты вариабельных областей сильно отличаются по последовательности среди разных антител. V-область опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. При этом вариабельность неравномерно распределена по 110-аминокислотному участку вариабельных областей. На самом деле V-области состоят из менее вариабельных (*например*, относительно инвариантных) участков, называемых каркасными областями (FR) из около 15-30 аминокислот, разделенных более короткими областями большей вариабельности (*например*, сильной вариабельности), называемыми «гипервариабельными областями», каждая из которых имеет длину около 9-12 аминокислот. Каждая из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей содержит по четыре FR, преимущественно принимающих β-складчатую конфигурацию, соединенных тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли, соединяющие β-складчатую структуру, а в некоторых случаях, образующие ее часть. Гипервариабельные области каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости FR и, вместе с гипервариабельными областями другой цепи, участвуют в образовании антиген-связывающего сайта антител (*см., например*, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed. 1991)). Константные области не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, однако проявляют

различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) и комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ). Вариабельные области сильно отличаются по последовательности среди разных антител. В конкретных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой вариабельную область человека.

[00113] Термины «нумерация остатков вариабельной области по Kabat» или «нумерация аминокислотных позиций по Kabat» и их вариации относятся к системе нумерации, используемой для вариабельных областей тяжелой цепи или вариабельных областей легкой цепи при составлении антител в Kabat et al., *выше*. При использовании этой системы нумерации фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньшее количество или дополнительное количество аминокислот, что соответствует укорочению FR или CDR вариабельного домена или вставке в них. Например, вариабельный домен тяжелой цепи может содержать вставку одной аминокислоты (остаток 52a в соответствии с Kabat) после остатка 52 и три вставленных остатка (*например*, остатки 82a, 82b и 82c *и т. д.* в соответствии с Kabat) после остатка 82. Нумерация остатков по Kabat может быть определена для данного антитела путем выравнивания областей гомологии в последовательности антитела со «стандартной» пронумерованной по Kabat последовательностью. Система нумерации по Kabat в общем случае используется для обозначения остатка в вариабельном домене (приблизительно, остатки 1-107 легкой цепи и остатки 1-113 тяжелой цепи) (*например*, Kabat et al., *выше*). «Система нумерации EU» или «индекс EU» в общем случае используется для обозначения остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (*например*, индекс EU, описанный в Kabat et al., выше). «Индекс EU по Kabat» относится к нумерации остатков человеческого антитела IgG 1 EU. Были описаны другие системы нумерации, например, AbM, Chothia, Contact, IMGT и AHon.

[00114] «Интактное» антитело представляет собой антитело, содержащее антигенсвязывающий сайт, а также CL и по меньшей мере константные области тяжелой цепи CH1, CH2 и CH3. Константные области могут включать человеческие константные области или варианты их аминокислотной последовательности. В определенных вариантах осуществления интактное антитело имеет одну или более эффекторных функций.

[00115] «Фрагменты антител» содержат часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая или вариабельная область интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают, без ограничения, Fab, Fab', $F(ab')_2$ и Fv; диатела и ди-диатела (*см., например*, Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6444-48; Lu et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:19665-72; Hudson et al., 2003, Nat. Med. 9:129-34; WO 93/11161; и патенты США № 5837242 и 6492123); одноцепочечные молекулы антитела (*см., например*, патенты США № 4946778; 5260203; 5482858 и 5476786); антитела с двойным вариабельным доменом (*см., например*, патент США № 7612181); антитела с одним вариабельным доменом (sdAb) (*см., например*, Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50: 98-

101; и Streltsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-49); и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[00116] «Функциональный фрагмент», «связывающий фрагмент» или «антигенсвязывающий фрагмент» терапевтического антитела проявляет по меньшей мере одну, если не некоторые или все биологические функции, присущие интактному антителу, причем функция включает по меньшей мере связывание с целевым антигеном (*например*, SIRPα-связывающий фрагмент или фрагмент, который связывается с SIRPα).

[00117] В контексте данного документа термин «слитый белок» относится к полипептиду, который содержит аминокислотную последовательность антитела и аминокислотную последовательность гетерологичного полипептида или белка (*например*, полипептида или белка, которые обычно не являются частью антитела (*например*, антигенсвязывающее антитело не к SIRPα)). Термин «слитый», употребляемый в отношении к SIRPα или антителу к SIRPα, относится к соединению пептида или полипептида, или их фрагмента, варианта и/или производной с гетерологичным пептидом или полипептидом. В определенных вариантах осуществления слитый белок сохраняет биологическую активность SIRPα или антитела к SIRPα. В определенных вариантах осуществления слитый белок содержит VH-область, VL-область, CDR VH (одну, две или три VH CDR) и/или CDR VL (одну, две или три CDR VL) антитела к SIRPα, причем слитый белок связывается с эпитопом SIRPα, фрагментом SIRPα и/или полипептидом SIRPα.

[00118] Термин «тяжелая цепь», употребляемый в отношении антитела, относится к полипептидной цепи массой около 50-70 кДа, в которой амино-концевая часть содержит вариабельную область от около 120 до 130 или более аминокислот, а карбокси-концевая часть содержит константную область. Константная область может принадлежать одному из пяти разных типов (*например*, изотипов), называемых альфа (α), дельта (δ), эпсилон (ε), гамма (γ) и мю (μ) на основании аминокислотной последовательности константной области тяжелой цепи. Разные тяжелые цепи отличаются по размеру: α, δ и γ содержат приблизительно 450 аминокислот, тогда как μ и ε содержат приблизительно 550 аминокислот. В комбинации с легкой цепью эти разные типы тяжелых цепей обуславливают наличие пяти хорошо известных классов (*например*, изотипов) антител, IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, соответственно, включая подклассы IgG, а именно IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Тяжелая цепь может представлять собой тяжелую цепь человека.

[00119] Термин «легкая цепь», употребляемый в отношении антитела, относится к полипептидной цепи массой около 25 кДа, в которой амино-концевая часть содержит вариабельную область от около 100 до 110 или более аминокислот, а карбокси-концевая часть содержит константную область. Приблизительная длина легкой цепи составляет от 211 до 217 аминокислот. Существуют два разных типа, называемых каппа (κ) или лямбда (λ) на основании аминокислотной последовательности их константных доменов. Аминокислотные последовательности легкой цепи хорошо известны в данной области техники. Легкая цепь может представлять собой легкую цепь человека.

[00120] В контексте данного документа термин «хозяин» относится к животному, такому как млекопитающее (*например*, человек).

[00121] В контексте данного документа термин «клетка-хозяин» относится к конкретной рассматриваемой клетке, которая может быть трансфицирована молекулой нуклеиновой кислоты, и потомству или потенциальному потомству такой клетки. Потомство такой клетки может не быть идентичным с родительской клеткой, трансфицированной молекулой нуклеиновой кислоты, вследствие мутаций или влияния окружения, которые могут возникать в последующих поколениях, или интеграции молекулы нуклеиновой кислоты в геном клетки-хозяина.

[00122] В контексте данного документа термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, *например*, отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными за исключением возможных мутаций природного происхождения, которые могут присутствовать в незначительных количествах, а каждое моноклональное антитело, как правило, распознает один эпитоп на антигене. В конкретных вариантах осуществления в контексте данного документа «моноклональное антитело» представляет собой антитело, вырабатываемое одной гибридомой или другой клеткой, причем антитело связывается с единственным эпитопом SIRPα согласно определению, например, методом ИФА или другого анализа связывания антигенов или конкурентного связывания, известного в данной области техники. Термин «моноклональное» не ограничен каким-либо конкретным способом получения антитела. Например, моноклональные антитела, применимые в настоящем изобретении, могут быть получены с помощью гибридомной методологии, впервые описанной Kohler et al., 1975, Nature 256:495, или могут быть получены с помощью методов рекомбинантных ДНК в бактериальных клетках или эукариотических клетках животных или растений (*см., например*, патент США № 4816567). «Моноклональные антитела» также могут быть выделены из фаговых библиотек антител с помощью способов, описанных, например, в Clackson et al., 1991, Nature 352:624-28 и Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581-97. Другие способы получения клональных клеточных линий и экспрессируемых ими моноклональных антител хорошо известны в данной области техники *См.*, например, Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002). Типовые способы получения моноклональных антител приведены в примерах данного документа.

[00123] Термин «нативный», употребляемый в связи с биологическими материалами, такими как молекулы нуклеиновых кислот, полипептиды, клетки-хозяева и т. п., относится к тем, которые встречаются в природе и не подвергались манипуляции, модификации и/или изменению (*например*, выделению, очистке, отбору) человеком.

[00124] Антитела, предложенные в данном документе, могут включать «химерные» антитела, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от определенного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, а остальная часть

цепи (цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность (*см.* Патент США № 4816567; и Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55).

[00125] «Гуманизированные» формы нечеловеческих (*например*, мышиных) антител представляют собой химерные антитела, которые включают иммуноглобулины человека (*например*, реципиентное антитело), в которых нативные остатки CDR замещены остатками из соответствующих CDR отличного от человека вида (*например*, донорное антитело), такого как мышь, кролик или отличный от человека примат, имеющие необходимые специфичность, аффинность и способность. В некоторых случаях один или более остатков FR-области иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками, не принадлежащими человеку. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые отсутствуют в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации осуществляют для дополнительного улучшения характеристик антитела. Тяжелая или легкая цепь гуманизированного антитела может содержать практически все из по меньшей одной или более вариабельных областей, в которых все или практически все CDR соответствуют таковым из не принадлежащего человеку иммуноглобулина, а все или практически все FR получены из последовательности иммуноглобулина человека. В определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. Дополнительные подробности см. в, Jones et al., 1986, Nature 321:522-25; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-29; Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-96; Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89; патентах США № 6800738; 6719971; 6639055; 6407213; и 6054297.

[00126] «Человеческое антитело» представляет собой антитело, которое имеет аминокислотную последовательность, которая соответствует таковой из антитела, вырабатываемого человеком, и/или была создана с помощью любых технологий получения человеческих антител, описанных в данном документе. Из этого определения человеческого антитела явным образом исключено гуманизированное антитело, содержащее не принадлежащие человеку антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела можно получать, используя различные технологии, известные в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея (Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581) и библиотеки дрожжевого дисплея (Chao et al., 2006, Nature Protocols 1: 755-68). Также для получения человеческих моноклональных антител доступны способы, описанные в Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985); Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147(1):86-95; and van Dijk and van de Winkel, 2001, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74. Человеческие антитела можно получать путем введения антигена трансгенному животному, которое было

модифицировано так, чтобы вырабатывать такие антитела в ответ на стимуляцию антигеном, но чьи эндогенные локусы были инактивированы, *например*, мыши (*см.*, например, Jakobovits, 1995, Curr. Opin. Biotechnol. 6(5):561-66; Brüggemann and Taussing, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8(4):455-58; и патенты США № 6075181 и 6150584 относительно технологии XENOMOUSE™). См., также, например, Li et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:3557-62 относительно человеческих антител, полученных с помощью технологии гибридомы В-клеток человека.

[00127] «CDR» относится к одной из трех гипервариабельных областей (H1, H2 или H3) в пределах некаркасной области β-складчатого каркаса VH иммуноглобулина (Ig или антитела) или одной из трех гипервариабельных областей (L1, L2 или L3) в пределах некаркасной области β-складчатого каркаса VL антитела. Соответственно, CDR представляют собой последовательности вариабельной области, перемежающиеся последовательностями каркасной области. Области CDR хорошо известны специалистам в данной области техники и были определены, например, Kabat, как области наибольшей гипервариабельности в пределах вариабельных (V) доменов антитела (Kabat et al., 1997, J. Biol. Chem. 252:6609-16; Kabat, 1978, Adv. Prot. Chem. 32:1-75). Последовательности областей CDR также были структурно определены Chothia как те остатки, которые не являются частью консервативного β-складчатого каркаса и, таким образом, способны принимать разные конформации (Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). Обе терминологии хорошо известны в данной области техники. Последовательности области CDR также были определены с помощью AbM, Contact и IMGT. Позиции CDR в пределах вариабельной области канонического антитела были определены путем сравнения многочисленных структур (Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol. 273:927-48; Morea et al., 2000, Methods 20:267-79). Поскольку число остатков в пределах гипервариабельной области варьируется для разных антител, дополнительные остатки относительно канонических позиций традиционно нумеруют, приписывая a, b, c и так далее рядом с номером остатка в канонической схеме нумерации вариабельной области (Al-Lazikani et al., *выше*). Такая номенклатура также хорошо известна специалистам в данной области техники.

[00128] В контексте данного документа термин «гипервариабельная область», «HVR» или «HV» относится к областям вариабельной области антитела, являющимся гипервариабельными по последовательности и/или образующим структурно определенные петли. В общем случае антитела содержат шесть гипервариабельных областей, три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). Применяют большое число вариантов разграничения гипервариабельной области, которые включены в данный документ. Определяющие комплементарность области по Kabat (CDR) основаны на вариабельности последовательности и являются наиболее применимыми (*см.*, например, Kabat et al., *выше*). Chothia, напротив, относится к расположению структурных петель (*см., например*, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). Конец петли CDR-H1 по Чотиа при нумерации согласно системе нумерации по Кабат варьируется между H32 и

H34 в зависимости от длины петли (это связано с тем, что в схеме нумерации по Кабат в H35A и H35B размещаются вставки; если ни 35A, ни 35B не присутствуют, петля заканчивается в 32; если присутствует только 35A, петля заканчивается в 33; если присутствуют оба 35A и 35B, петля заканчивается в 34). Гипервариабельные области AbM представляет компромиссный вариант между CDR по Kabat и структурными петлями по Chothia и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM (*смотрите*, например, Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)). «Контактные» гипервариабельные области основаны на анализе доступных комплексных кристаллических структур. Остатки из каждой из этих гипервариабельных областей или CDR приведены ниже.

[00129] Недавно была разработана и стала широко применяться универсальная система нумерации ImMunoGeneTics (IMGT) Information System® (Lafranc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77). IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующуюся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (ТКР) и главном комплексе гистосовместимости (ГКГС) человека и других позвоночных. В данном документе CDR указаны в терминах как аминокислотной последовательности, так и расположения в легкой или тяжелой цепи. Так как «расположение» CDR в структуре вариабельного домена иммуноглобулина является консервативным среди разных видов и представлено в структурах, называемых петлями, с помощью систем нумерации, которые выравнивают последовательности вариабельного домена в соответствии со структурными характеристиками, остатки CDR и каркасной области легко определимы. Эту информацию можно использовать при прививании и замещении остатков CDR из иммуноглобулинов одного вида в акцепторную каркасную область из, как правило, человеческого антитела. Дополнительная система нумерации (AHon) была разработана Honegger and Plückthun, 2001, J. Mol. Biol. 309: 657-70. Соответствие между системами нумерации, включая, например, нумерацию Kabat и уникальную систему нумерации IMGT, хорошо известно специалисту в данной области техники (*см., например*, Kabat, *выше*; Chothia and Lesk, *выше*; Martin, *выше*; Lefranc et al., *выше*).

	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Контакт
V_H CDR1	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V_H CDR2	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
V_H CDR3	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

[00130] Гипервариабельные области могут содержать «расширенные гипервариальные области» следующим образом: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2), и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 или 26-35A (H1), 50-65 или 49-65 (H2), и 93-102,

94-102, или 95-102 (H3) в VH. Используемые в данном документе термины «HVR» и «CDR» используются взаимозаменяемо.

[00131] Термины «константная область» или «константный домен» относятся к карбокси-концевой части легкой и тяжелой цепи, которая непосредственно не принимает участие в связывании антитела с антигеном, но проявляет различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Этот термин относится к части молекулы иммуноглобулина, имеющей более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с другой частью иммуноглобулина, вариабельной областью, которая содержит антигенсвязывающий сайт. Константная область может содержать области CH1, CH2 и CH3 тяжелой цепи и область CL легкой цепи.

[00132] Термин «каркасная область» или «FR» относится к остаткам вариабельной области, которые фланкируют CDR. Остатки FR присутствуют, например, в химерных, гуманизированных, человеческих, доменных антителах, диателах, линейных антителах и биспецифических антителах. Остатки FR представляют собой остатки вариабельного домена, отличные от остатков гипервариабельной области или остатков CDR.

[00133] Антитело «с созревшей аффинностью» представляет собой антитело с одним или более изменениями (*например*, вариациями аминокислотной последовательности, включая изменения, добавления и/или делеции) в одной или более его HVR, что приводит к улучшению аффинности антитела к антигену по сравнению с родительским антителом, которое не имеет этого(их) изменения(ий). Антитела с созревшей аффинностью могут иметь наномолярные или даже пикомолярные аффинности к целевому антигену. Антитела с созревшей аффинностью получают способами, известными в данной области техники. Для обзора см. Hudson and Souriau, 2003, Nature Medicine 9:129-34; Hoogenboom, 2005, Nature Biotechnol. 23:1105-16; Quiroz and Sinclair, 2010, Revista Ingeneria Biomedia 4:39-51.

[00134] «Аффинность связывания» в общем случае относится к силе суммарных нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (*например*, связывающего белка, такого как антитело) и ее партнером по связыванию (*например*, антигеном). Если не указано иное, в контексте данного документа «аффинность связывания» относится к действительной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие в соотношении 1:1 между членами связывающей пары (*например*, антителом и антигеном). Аффинность связывающей молекулы X к ее партнеру по связыванию Y в общем случае может быть представлена константой диссоциации ($K_Д$). Аффинность можно измерить обычными методами, известными в данной области, включая описанные в данном документе. Низкоаффинные антитела обычно связывают антиген медленно и склонны легко диссоциировать, тогда как высокоаффинные антитела обычно связывают антиген быстрее и имеют тенденцию оставаться связанными дольше. В данной области техники известен ряд способов измерения аффинности связывания, любые из которых можно использовать в целях настоящего изобретения. Конкретные иллюстративные варианты осуществления включают следующее. В одном варианте

осуществления «$K_Д$» или «значение $K_Д$» может быть измерено с помощью анализа, известного в данной области техники, например, анализа связывания. $K_Д$ может быть измерено в анализе РИА, например, проводимом с Fab-версией представляющего интерес антитела и его антигеном (Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865- 81). $K_Д$ или значение $K_Д$ также может быть измерено с помощью анализа методом поверхностного плазмонного резонанса от Biacore®, с применением, например, Biacore®TM-2000 или Biacore®TM-3000, или с помощью биослоевой интерферометрии, например, системы Octet®QK384. «Скорость ассоциации» или «k_{acc}» также может быть измерена с помощью тех же самых методов поверхностного плазмонного резонанса или биослоевой интерферометрии, описанных выше, с применением, например, Biacore®TM-2000 или Biacore®TM-3000, или системы Octet®QK384.

[00135] Выражение «по существу сходный» или «по существу одинаковый» означает достаточно высокую степень сходства между двумя числовыми значениями (*например*, одним, связанным с антителом по настоящему изобретению, и другим, связанным с эталонным антителом), так что специалист в данной области техники посчитает разницу между этими двумя значениями такой, которая имеет небольшую или нулевую биологическую и/или статистическую значимость в контексте биологической характеристики, измеряемой указанными значениями (*например*, значениями $K_Д$). Например, разница между двумя значениями может составлять менее чем около 50%, менее чем около 40%, менее чем около 30%, менее чем около 20%, менее чем около 10% или менее чем около 5%, в виде функции от значения для эталонного антитела.

[00136] В контексте данного документа выражение «по существу повышен», «по существу снижен» или «по существу отличается» означает достаточно высокую степень различия между двумя числовыми значениями (*например*, одним, связанным с антителом по настоящему изобретению, и другим, связанным с эталонным антителом), так что специалист в данной области техники посчитает разницу между этими двумя значениями такой, которая имеет статистическую значимость в контексте биологической характеристики, измеряемой указанными значениями. Например, разница между указанными двумя значениями может составлять более чем около 10%, более чем около 20%, более чем около 30%, более чем около 40% или более чем около 50%, в виде функции от значения для эталонного антитела.

[00137] «Эффекторные функции антитела» относятся к видам биологической активности, обусловленным Fc-областью (*например*, нативной последовательностью Fc-области или вариантом аминокислотной последовательности Fc-области) антитела, и варьируются в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают: связывание C1q; КЗЦ; связывание Fc-рецептора; и АЗКЦ.

[00138] В контексте данного документа термин «эффективное количество» относится к количеству предложенных в данном документе антитела или фармацевтической композиции, которого достаточно для того, чтобы получить необходимый результат.

[00139] В данном документе термин «Fc-область» употребляется для определения С-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая, например, Fc-области нативной последовательности, рекомбинантные Fc-области и вариантные Fc-области. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулин могут варьировать, Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG часто определяют как участок от аминокислотного остатка в позиции Cys226 или от Pro230 до его карбокси-конца. С-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU) Fc-области может быть удален, например, во время получения или очистки антитела, или путем рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител, в которых удалены все остатки K447, популяции антител, в которых не удалены остатки K447, и популяции антител, содержащие смесь из антител с остатком K447 и без него.

[00140] «Функциональная Fc-область» обладает «эффекторной функцией» Fc-области с нативной последовательностью. Типовые «эффекторные функции» включают связывание C1q; КЗЦ; связывание Fc-рецептора; АЗКЦ; фагоцитоз; подавление рецепторов клеточной поверхности (*например*, В-клеточного рецептора); *т.д.* Для таких эффекторных функций обычно необходимо, чтобы Fc-область была объединена со связывающей областью или связывающим доменом (*например*, вариабельной областью или доменом антитела), и их можно оценить, используя различные описанные варианты анализа.

[00141] Fc-область с нативной последовательностью содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности Fc-области природного происхождения, не подвергнутой манипуляции, модификации и/или изменению (*например*, выделению, очистке, отбору, включению или объединению с другими последовательностями, такими как последовательности вариабельной области) человеком. Нативная последовательность Fc-областей IgG1 человека включает нативную последовательность Fc-области IgG1 человека (аллотипы не-A и A); нативную последовательность Fc-области IgG2 человека; нативную последовательность Fc-области IgG3 человека; и нативную последовательность Fc-области IgG4 человека, а также их варианты природного происхождения. Например, ниже представлена аминокислотная последовательность нативной Fc-области IgG1 человека:
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**K**VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:155, K322 подчеркнуто).

[00142] Примерная последовательность нативной Fc-области IgG4 человека представлена ниже:
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG

LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**S**CPAPEF**L**GGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:156, S228 и L235 подчеркнуты).

[00143] «Вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-области за счет по меньшей мере одной аминокислотной модификации (*например*, замены, добавления или делеции). В определенных вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с нативной последовательностью Fc-области или с Fc-областью родительского полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен или от около одной до около пяти аминокислотных замен в нативной последовательности Fc-области или в Fc-области родительского полипептида. В данном документе вариантная Fc-область может иметь по меньшей мере около 80% гомологии с нативной последовательности Fc-области и/или с Fc-областью родительского полипептида, или по меньшей мере около 90% гомологии с ними, например, по меньшей мере около 95% гомологии с ними. Например, вариант с изменением одной аминокислоты K на A в положении 322 в аминокислотной последовательности Fc IgG1 человека, Fc-область с K322A IgG1, приведен ниже:
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**A**VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:157, замена K322A подчеркнута).

[00144] Примерный вариант с заменой двух аминокислот LL на AA в положениях 234-235 и заменой одной аминокислоты D на S в положении 265 в аминокислотной последовательности Fc IgG1 человека, Fc-области с AAS IgG1, представлен ниже:
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV**S**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:144, замены от LL до AA и от D до S подчеркнуты).

[00145] Примерный вариант с заменой одной аминокислоты S на P в положении 228 в аминокислотной последовательности Fc IgG4 человека, Fc-области IgG4P, представлен ниже:
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG

LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:158, замена S228P подчеркнута).

[00146] Типовой вариант с двумя аминокислотными изменениями в позициях 228 и 235 в аминокислотной последовательности Fc IgG4 человека, Fc-область IgG4PE, приведен ниже:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEF**E**G GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:159, замены S228P и L235E подчеркнуты).

[00147] Термин «вариант» при употреблении в отношении к SIRPα или антителу к SIRPα относиться к пептиду или полипептиду, содержащему одну или более (например, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10 или от около 1 до около 5) замен, делеций и/или вставок в аминокислотной последовательности по сравнению с нативной или немодифицированной последовательностью. Например, вариант антитела к SIRPα может являться результатом одного или более (например, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10 или от около 1 до около 5) изменений в аминокислотной последовательности нативного или ранее не модифицированного антитела к SIRPα. Варианты антител к SIRPα могут быть вариантами природного происхождения, такими как аллельные или сплайс-варианты, или могут быть искусственно сконструированы. Варианты антител к SIRPα могут быть получены из соответствующих молекул нуклеиновых кислот, кодирующих эти варианты. В конкретных вариантах осуществления вариант антитела к SIRPα по меньшей мере сохраняет функциональную активность антитела к SIRPα (*например*, антагонистическую активность по отношению к связыванию CD47 и/или CD47-индуцированную передачу сигнала SIRPα). В конкретных вариантах осуществления вариант антитела к SIRPα связывает SIRPα и/или является антагонистическим в отношении связывания CD47 с SIRPα и/или активности SIRPα. В определенных вариантах осуществления вариант кодируется вариантом молекулы нуклеиновой кислоты с однонуклеотидным полиморфизмом (ОНП), который кодирует VH- или VL-области или подобласти антитела к SIRPα, такие как одна или более CDR.

[00148] Термин «вектор» относится к веществу, которое используют для переноса или включения последовательности нуклеиновой кислоты, включая, например, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело к SIRPα, описанное в данном документе, чтобы внести последовательность нуклеиновой кислоты в клетку-

хозяина. Векторы, применимые для использования, включают, например, экспрессионные векторы, плазмиды, фаговые векторы, вирусные векторы, эписомы и искусственные хромосомы, которые могут содержать селективные последовательности или маркеры, функциональные для стабильной интеграции в хромосому клетки-хозяина. Кроме того, векторы могут содержать один или более генов селективных маркеров и соответствующие последовательности регуляции экспрессии. Гены селективных маркеров, которые могут быть включены, например, обеспечивают устойчивость к антибиотикам или токсинам, восполняют ауксотрофный дефицит или обеспечивают важные питательные вещества, отсутствующие в культуральной среде. Последовательности контроля экспрессии могут включать конститутивные и индуцибельные промоторы, энхансеры транскрипции, терминаторы транскрипции и т.п., которые хорошо известны в данной области техники. Когда две или более молекулы нуклеиновой кислоты должны совместно экспрессироваться (*например*, тяжелая и легкая цепь антитела или VH и VL антитела), обе молекулы нуклеиновой кислоты могут быть вставлены, например, в один вектор экспрессии или в отдельные векторы экспрессии. В случае экспрессии из одного вектора, кодирующие нуклеиновые кислоты могут быть функционально связаны с одной общей последовательностью регуляции экспрессии или связаны с разными последовательностями регуляции экспрессии, таким как один индуцибельный промотор и один конститутивный промотор. Введение молекул нуклеиновых кислот в клетку-хозяина можно осуществлять, используя способы, хорошо известные в данной области техники. Такие способы включают, например, анализ нуклеиновых кислот, такой как нозерн-блоттинг или амплификация мРНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноблоттинг для экспрессии генных продуктов или другие подходящие аналитические методы для исследования экспрессии внесенной последовательности нуклеиновой кислоты или ее соответствующего генного продукта. Специалистам в данной области техники понятно, что молекулы нуклеиновых кислот экспрессируют в достаточном количестве для получения необходимого продукта (*например*, описанного в данном документе антитела к SIRPα), и дополнительно понятно, что уровни экспрессии можно оптимизировать для получения достаточной экспрессии, используя способы, хорошо известные в данной области техники.

[00149] «Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность» или «АЗКЦ» относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig, связанный с Fc-рецепторами (FcR), присутствующими на определенных цитотоксических клетках (*например*, естественных клетках-киллерах (NK-клетках), нейтрофилах и макрофагах), позволяет этим цитотоксическим эффекторным клеткам специфически связываться с несущей антиген целевой клеткой и впоследствии уничтожать целевую клетку цитотоксинами. Антитела «приводят в готовность» цитотоксические клетки и абсолютно необходимы для такого уничтожения. NK-клетки, первичные клетки для опосредования АЗКЦ экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Существует информация об экспрессии FcR на гемопоэтических клетках (*см.*,

например, Ravetch and Kinet, 1991, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92). Чтобы оценить активность АЗКЦ представляющей интерес молекулы можно проводить in vitro анализ АЗКЦ (*см., например*, патенты США № 5500362 и 5821337). Эффекторные клетки, пригодные для такого анализа, включают мононуклеарные клетки периферической крови МКПК (МКПК) и естественные клетки-киллеры (NK). В альтернативном или дополнительном варианте активность АЗКЦ представляющей интерес молекулы можно оценивать in vivo, например, на животной модели (*см., например*, Clynes et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:652-56). Для применения могут быть отобраны антитела со слабой или отсутствующей АЗКЦ-активностью.

[00150] «Антителозависимый клеточный фагоцитоз» или «АЗКФ» относится к разрушению целевых клеток посредством опосредованного моноцитами или макрофагами фагоцитоза, когда иммуноглобулин, связанный с Fc-рецепторами (FcR), присутствующими на определенных фагоцитотических клетках (*например*, нейтрофилах, моноцитах и макрофагах), позволяет этим фагоцитотическим клеткам специфически связываться с несущей антиген целевой клеткой и впоследствии уничтожать целевую клетку. Чтобы оценить активность АЗКФ представляющей интерес молекулы можно проводить in vitro анализ АЗКФ (*см., например*, Bracher et al., 2007, J. Immunol. Methods 323:160-71). Фагоцитотические клетки, применимые для такого анализа, включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), очищенные моноциты из МКПК или клетки U937, дифференцированные в мононуклеарный тип. В альтернативном или дополнительном варианте АЗКФ-активность представляющей интерес молекулы можно оценивать in vivo, например, на животной модели (*см, например*, Wallace et al., 2001, J. Immunol. Methods 248:167-82). Для применения могут быть отобраны антитела со слабой или отсутствующей АЗКФ-активностью.

[00151] Термины «Fc-рецептор» или «FcR» описывают рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. Типовой FcR представляет собой нативную последовательность человеческого FcR. Кроме того, типовой FcR представляет собой рецептор, который связывает антитело IgG (*например*, гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты этих рецепторов и формы с альтернативным сплайсингом. Рецепторы FcγRII включают FcγRIIA («активирующий рецептор») и FcγRIIB («ингибирующий рецептор»), которые содержат сходные аминокислотные последовательности, отличающиеся преимущественно цитоплазматическими доменами (*см., например*, Daëron, 1997, Annu. Rev. Immunol. 15:203-34). Известны различные FcR (*см., например*, Ravetch and Kinet, 1991, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92; Capel et al., 1994, Immunomethods 4:25-34; и de Haas et al., 1995, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41). Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, включены в термин «FcR» в данном документе. Этот термин также включает неонатальный рецептор, FcRn, отвечающий за перенос материнских IgG в плод (*см., например*, Guyer et al., 1976, J. Immunol. 117:587-93; и Kim et al., 1994, Eu. J. Immunol. 24:2429-34). Были описаны варианты антител с улучшенным или пониженным

связыванием с FcR (*см., например*, WO 2000/42072; патенты США № 7183387; 7332581; и 7335742; Shields et al. 2001, J. Biol. Chem. 9(2):6591-604).

[00152] «Комплементзависимая цитотоксичность» или «КЗЦ» относится к лизису клетки-мишени в присутствии комплемента. Активация классического пути комплемента инициируется связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с антителами (соответствующего подкласса), которые связаны со своим распознаваемым антигеном. Чтобы оценить активацию комплемента, можно проводить анализ КЗЦ (*см., например*, Gazzano-Santoro et al., 1996, J. Immunol. Methods 202:163). Были описаны полипептидные варианты с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области (полипептиды с вариантной Fc-областью) и повышенной или сниженной способностью связывать C1q (*см., например*, патент США № 6194551; WO 1999/51642; Idusogie et al., 2000, J. Immunol. 164: 4178-84). Для применения могут быть отобраны антитела со слабой или отсутствующей КЗЦ-активностью.

[00153] «Внеклеточный домен» или «ВКД» полипептида SIRPα относится к форме полипептида SIRPα, которая по существу не содержит трансмембранный и цитоплазматический домены. Например, ВКД полипептида SIRPα может иметь менее 1% таких трансмембранного и цитоплазматического доменов и может иметь менее 0,5% таких доменов.

[00154] Термин «идентичность» относится к родству между последовательностями двух или более полипептидных молекул или двух или более молекул нуклеиновых кислот, определяемому путем выравнивания и сравнения последовательностей. «Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» в отношении эталонной полипептидной последовательности определяется как процент аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны с аминокислотными остатками в эталонной полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения в случае необходимости гэпов для достижения максимального процента идентичности последовательности, и не считая любые консервативные замены частью идентичности последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть осуществлено различными способами, находящимися в компетенции специалиста в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN (DNAStar, Inc.) Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[00155] «Модификация» аминокислотных остатка/позиции относится с изменению первичной аминокислотной последовательности по сравнению с исходной аминокислотной последовательностью, причем это изменение является результатом изменения последовательности, затрагивающего указанные аминокислотные остаток/позицию. Например, типичные модификации включают замену остатка другой

аминокислотой (*например*, консервативную или неконсервативную замену), вставку одной или более (*например*, в общем случае менее 5, 4 или 3) аминокислот вблизи указанных остатка/позиции и/или делецию указанных остатка/позиции.

[00156] «Эпитоп» представляет собой сайт на поверхности молекулы антигена, с которым связывается одна молекула антитела, такой как локализованная область на поверхности антигена, такого как полипептид SIRPα или фрагмент полипептида SIRPα, которая может связываться с одной или более антигенсвязывающими областями антитела и которая обладает антигенной или иммуногенной активностью в организме животного, такого как млекопитающее (*например*, человек), которая способна вызывать иммунный ответ. Эпитоп, обладающий иммуногенной активностью, представляет собой часть полипептида, которая вызывает ответ антител у животного. Эпитоп, обладающий антигенной активностью, представляет собой часть полипептида, с которой связывается антитело, что определяется любым методом, хорошо известным в данной области, включая, например, с помощью иммуноанализа. Антигенные эпитопы необязательно должны быть иммуногенными. Эпитопы часто состоят из химически активных поверхностных групп молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахара, и имеют специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические зарядовые характеристики. Эпитопы антител могут быть линейными или конформационными эпитопами. Линейные эпитопы образованы непрерывной последовательностью аминокислот в белке. Конформационные эпитопы образуются из аминокислот, которые являются прерывистыми в последовательности белка, но которые объединяются при сворачивании белка в его трехмерную структуру. Индуцированные эпитопы образуются, когда трехмерная структура белка имеет измененную конформацию, такую как после активации или связывания другого белка или лиганда. В определенных вариантах осуществления эпитоп SIRPα представляет собой трехмерную поверхностную структуру полипептида SIRPα. В других вариантах осуществления эпитоп SIRPα представляет собой линейную структуру полипептида SIRPα. В целом антиген имеет несколько или много разных эпитопов и может вступать в реакцию со многими разными антителами.

[00157] Антитело связывает «эпитоп», «по существу тот же эпитоп» или «тот же эпитоп», что и эталонное антитело, если два антитела распознают идентичные, перекрывающиеся или смежные эпитопы в трехмерном пространстве. Наиболее широко используемыми и быстрыми способами для определения того, связываются ли два антитела с идентичными, перекрывающимися или смежными эпитопами в трехмерном пространстве, являются методы конкурентного анализа, которые могут быть разработаны в большом количестве разных форматов, например, с использованием меченного антигена или меченного антитела. В некоторых вариантах анализа антиген иммобилизуют на 96-луночном планшете или экспрессируют на клеточной поверхности, а способность немеченных антител блокировать связывание меченных антител измеряют, используя радиоактивные, флуоресцентные или ферментные метки.

[00158] «Эпитопное картирование» представляет собой процесс идентификации сайтов связывания или эпитопов антител на их целевых антигенах. «Эпитопная сортировка» представляет собой процесс объединения антител в группы на основании эпитопов, которые они распознают. Конкретнее, эпитопная сортировка включает способы и системы, позволяющие выявлять различия свойств распознавания эпитопов различных антител с помощью конкурентного анализа в комбинации с вычислительными процессами для кластеризации антител на основании их свойств распознавания эпитопов и идентификации антител, имеющих различную специфичность связывания.

[00159] В контексте данного документа «носители» включают фармацевтически приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, которое подвергается их воздействию, в применяемых дозировках и концентрациях. Часто физиологически приемлемым носителем является водный pH-забуференный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфатный, цитратный, и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные (*например*, менее чем около 10 аминокислотных остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТК; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как ТВИН™, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и ПЛЮРОНИКИ™. Термин «носитель» также может относиться к разбавителю, адъюванту (*например*, адъюванту Фрейнда (полному или неполному)), наполнителю или базовому раствору. Такие носители, включая фармацевтические носители, могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая нефтяные масла, масла животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. Когда композицию (*например*, фармацевтическую композицию) вводят внутривенно, типовым носителем является вода. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности, для растворов для инъекций. Подходящие наполнители (*например*, фармацевтические наполнители) включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, глицеринмоностеарат, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и т. п. Композиция, при необходимости, может также содержать незначительные количества смачивающих или эмульсифицирующих агентов или pH-забуференных агентов. Композиции могут находиться в форме растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, составов с замедленным высвобождением и т. п. Лекарственные формы для перорального применения могут содержать стандартные носители, такие как маннит, лактозу, крахмал, стеарат магния,

натрий сахарин, целлюлозу, карбонат магния и *т. п.* фармацевтического качества. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990). Композиции, включая фармацевтические соединения, могут содержать антитело к SIRPα, например, в выделенной или очищенной форме, вместе с подходящим количеством носителей.

[00160] В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый» означает то, что он одобрен регуляторным органом Федерального правительства или правительства штата, или приведен в Фармакопее США, Европейской фармакопее или другой общепризнанной фармакопее для применения для животных и, в частности, для человека.

[00161] В контексте данного документа «поликлональные антитела» относятся к популяции антител, генерируемой при иммуногенном ответе на белок, имеющий много эпитопов, и, таким образом, содержащей ряд разных антител, направленных на одинаковые или разные эпитопы этого белка. Способы получения поликлональных антител известны в данной области техники (*см., например*, Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002)).

[00162] «Выделенная нуклеиновая кислота» представляет собой нуклеиновую кислоту, например, РНК, ДНК или смешанные нуклеиновые кислоты, которая в значительной степени отделена от других последовательностей геномной ДНК, а также белков или комплексов, таких как рибосомы и полимеразы, которые в естественном состоянии сопутствуют нативной последовательности. «Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты представляет собой молекулу, которая отделена от других молекул нуклеиновых кислот, которые присутствуют в естественном источнике молекулы нуклеиновой кислоты. Кроме того, «выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, такая как молекула кДНК, может практически не содержать другой клеточный материал или культуральную среду в случае получения рекомбинантными методами, или практически не содержать химические предшественники или другие химические вещества в случае химического синтеза. В конкретном варианте осуществления одна или более описанных в данном документе молекул нуклеиновых кислот являются выделенными или очищенными. Этот термин включает последовательности нуклеиновых кислот, которые были удалены из своего природного окружения, и включает изоляты рекомбинантной или клонированной ДНК и химически синтезированные аналоги или же аналоги, синтезированные биологически гетерологичными системами. По существу очищенная молекула может включать выделенные формы молекулы.

[00163] Взаимозаменяемо употребляемые в данном документе термины «полинуклеотид» или «нуклеиновая кислота» относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть включен в полимер ДНК- или РНК-полимеразой или с помощью синтетической реакции.

Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. В контексте данного документа «олигонуклеотид» относится к коротким, в общем случае одноцепочечным, синтетическим полинуклеотидам, которые в общем случае, но не обязательно, имеют длину менее чем около 200 нуклеотидов. Термины «олигонуклеотид» и «полинуклеотид» не являются взаимоисключающими. Вышеприведенное описание для полинуклеотидов в равной и полной степени применимо для олигонуклеотидов. Клетка, которая вырабатывает антитело к SIRPα по настоящему изобретению, может включать родительскую клетку гибридомы, а также бактериальные и эукариотические клетки-хозяев, в которые были внесены нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела. Подходящие клетки-хозяева описаны ниже.

[00164] Если не указано иное, левый конец любой одноцепочечной полинуклеотидной последовательности, описанной в данном документе, является 5’ концом; левое направление двухцепочечных полинуклеотидных последовательностей называется 5’ направлением. Направление 5’-3’ добавления растущих транскриптов РНК называется направлением транскрипции; области последовательности в цепи ДНК, имеющие такую же последовательность, как и РНК-транскрипт, которые расположены 5’ относительно 5’ конца РНК-транскрипта, называются «вышележащими последовательностями»; области последовательности в цепи ДНК, имеющие такую же последовательность, как и РНК-транскрипт, которые расположены 3’ относительно 3’ конца РНК-транскрипта, называются «нижележащими последовательностями».

[00165] Термин «рекомбинантное антитело» относится к антителу, которое получено, экспрессировано, создано или выделено рекомбинантными способами. Рекомбинантные антитела могут представлять собой антитела, экспрессированные с помощью рекомбинантного экспрессионного вектора, трансфицированного в клетку-хозяина, антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки антител, антитела, выделенные из организма животного (*например*, мыши или коровы), которое является трансгенным и/или трансхромосомным в отношении генов человеческого иммуноглобулина (см., *например*, Taylor et al., 1992, Nucl. Acids Res. 20:6287-95), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулина с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела могут иметь вариабельные и константные области, в том числе полученные из последовательностей иммуноглобулина человеческой зародышевой линии (*смотрите* Kabat et al., *выше*). При этом в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные антитела можно подвергать in vitro мутагенезу (или, в случае использования животного, трансгенного в отношении последовательностей человеческого Ig, in vivo соматическому мутагенезу) и, таким образом, аминокислотные последовательности VH- и VL-областей рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и получены из последовательностей VH и VL человеческой зародышевой линии и родственны им, в

природе могут не существовать в рамках репертуара антител человеческой зародышевой линии in vivo.

[00166] Термины «субъект» и «пациент» могут употребляться взаимозаменяемо. В контексте данного документа в определенных вариантах осуществления субъект представляет собой млекопитающее, например, отличное от приматов (*например*, корову, свинью, лошадь, кошку, собаку, крысу *и т. д.*) или примата (*например*, обезьяну и человека). В конкретных вариантах осуществления субъектом представляет собой человека.

[00167] «Практически весь» относится к по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или около 100%.

[00168] Термины «выявляемый агент» или «выявляемая молекула» используются взаимозаменяемо в данном документе и относятся к веществу, которое можно использовать, чтобы убедиться в существовании или присутствии необходимой молекулы, такой как описанное в данном документе антитело к SIRPα, в образце или организме субъекта. Выявляемый агент может представлять собой вещество, которое можно визуализировать, или вещество, наличие которого можно определить и/или измерить иным образом (*например*, путем количественной оценки).

[00169] Термин «повышенный» или «увеличенный» при использовании в отношении SIRPα или цитокина предназначен для обозначения того, что уровень SIRPα или цитокина выше, чем уровень нормального эталонного диапазона или соответствующего контрольного субъекта. Такие «повышенные» или «увеличенные» уровни SIRPα или цитокины могут составлять 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 190%, 200%, 250%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 10-кратное, 20-кратное, 30-кратное, 40-кратное, 50-кратное, 100-кратное, 200-кратное, 300-кратное, 400-кратное, 500-кратное, 600-кратное, 700-кратное, 800-кратное, 1000-кратное или больше значение, чем у контрольного объекта или нормальной эталонный диапазон.

[00170] Термин «кодирующая нуклеиновая кислота» или его грамматические эквиваленты, употребляемый в отношении молекулы нуклеиновой кислоты, относится к молекуле нуклеиновой кислоты, находящейся в нативном состоянии или обработанной способами, хорошо известными специалистам в данной области техники, которая может быть транскрибирована с получением мРНК, которая затем транслируется в полипептид и/или его фрагмент. Антисмысловая цепь является комплементарной такой молекуле нуклеиновой кислоты и с нее можно восстановить кодирующую последовательность.

[00171] Термин «наполнитель» относится к инертному веществу, которое обычно используется в качестве разбавителя, базового раствора, консерванта, связующего вещества или стабилизатора, и включает, но не ограничивается этим, белки (*например*, сывороточный альбумин *и т. д.*), аминокислоты (*например*, аспарагиновую кислоту,

глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, глицин, гистидин *и т. д.*), жирные кислоты и фосфолипиды (*например*, алкилсульфонаты, каприлат *и т. д.*), поверхностно-активные вещества (*например*, ДСН, полисорбат, неионное поверхностно-активное вещество *и т. д.*), сахариды (*например*, сахарозу, мальтозу, трегалозу и *т.д.*) и полиолы (маннит, сорбит *и т. д.*). Также смотрите Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990), которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки.

[00172] В контексте пептида или полипептида употребляемый в данном документе термин «фрагмент» относится к пептиду или полипептиду, которые содержит менее, чем полноразмерную аминокислотную последовательность. Такой фрагмент может быть результатом, например, усечения в амино-конце, усечения в карбокси-конце и/или внутренней делеции остатка(ов) из аминокислотной последовательности. Фрагменты могут быть, например, результатом альтернативного сплайсинга РНК или in vivo протеазной активности. В определенных вариантах осуществления фрагменты SIRPα или фрагменты антитела к SIRPα включают полипептиды, содержащие аминокислотную последовательность из по меньшей мере 5 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 10 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 15 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 20 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 25 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 30 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 40 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 50 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 60 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 70 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 80 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 90 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 100 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 125 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 150 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 175 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 200 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 350, по меньшей мере 400, по меньшей мере 450, по меньшей мере 500, по меньшей мере 550, по меньшей мере 600, по меньшей мере 650, по меньшей мере 700, по меньшей мере 750, по меньшей мере 800, по меньшей мере 850, по меньшей мере 900 или по меньшей мере 950 смежных аминокислотных остатков аминокислотной последовательности полипептида SIRPα или антитела к SIRPα. В конкретном варианте осуществления фрагмент полипептида SIRPα или антитела к SIRPα сохраняет по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3 или более функций полипептида или антитела.

[00173] Термины «около» и «приблизительно» означают в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10%, в пределах 9%, в пределах 8%, в пределах 7%, в пределах 6%, в пределах 5%, в пределах 4%, в пределах 3%, в пределах 2%, в пределах 1% или менее заданного значения или диапазона.

[00174] Термины «вводить» или «введение» относятся к действию, состоящему в инъекции или ином варианте физической доставки вещества в том виде, в котором оно

существует за пределами организма (*например*, описанного в данном документе антитела к SIRPα), в организм пациента, например, путем мукозальной, интрадермальной, внутривенной, внутримышечной доставки, и/или любому другому способу физической доставки, описанному в данном документе или известному в данной области техники.

[00175] В контексте солидных опухолей, ингибирование может быть оценено по ингибированию прогрессирования заболевания, ингибированию роста опухоли, уменьшению первичной опухоли, облегчению симптомов, связанных с опухолью, ингибированию факторов, секретируемых опухолью, задержке появления первичных или вторичных опухолей, замедлению развития первичных или вторичных опухолей, снижению возникновения первичных или вторичных опухолей, замедлению или снижению тяжести вторичных эффектов заболевания, задержанию роста опухоли и регрессии опухолей, увеличению времени до прогрессирования (ВДП), увеличению выживаемости без прогрессирования (ВБП), увеличению общей выживаемости (ОВ), среди прочего. ОВ в контексте настоящего описания означает время от рандомизации (например, даты первой дозы) до смерти по любой причине и измеряется в популяции с назначенным лечением. ВДП в контексте настоящего описания означает время от рандомизации (например, даты первой дозы) до объективного прогрессирования опухоли; ВДП не включает смертельные случаи. ВБП в контексте настоящего описания означает время от рандомизации (например, даты первой дозы) до объективного прогрессирования опухоли или смерти. В одном варианте осуществления показатели ВБП вычисляют с использованием оценок Каплана - Мейера.

[00176] В некоторых вариантах осуществления лечение солидных опухолей можно оценивать с помощью критериев оценки ответа для солидных опухолей (RECIST 1.1), см. Eisenhauer EA, et al. Eur J Cancer 2009;45(2):228-247. Оценка с помощью RECIST 1.1 кратко изложена ниже.

[00177] Общий ответ следует оценивать в соответствии с **таблицей 7** для субъектов с целевыми поражениями и **таблицей 8** для субъектов только с нецелевыми поражениями.

Таблица 7: Ответ в определенный момент времени: субъекты с целевым (± нецелевым) заболеванием

Ответ целевых поражений	Ответ нецелевых поражений	Новые поражения	Общий ответ
ПО	ПО	Нет	ПО
ПО	не-ПО/ не-ПЗ	Нет	ЧО
ПО	Не оценивалось	Нет	ЧО
ЧО	не-ПЗ или не все оценивалось	Нет	ЧО

Ответ целевых поражений	Ответ нецелевых поражений	Новые поражения	Общий ответ
СЗ	не-ПЗ или не все оценивалось	Нет	СЗ
Не все оценивалось	Не-ПЗ	Нет	НО
ПЗ	Любое	Да или нет	ПЗ
Любое	ПЗ	Да или нет	ПЗ
Любое	Любое	Да	ПЗ

CR=полный ответ, PR=частичный ответ, SD=стабильное заболевание, PD=прогрессирующее заболевание, NE=не оценивалось.

Таблица 8: Ответ в определенный момент времени: субъекты только с нецелевым заболеванием

Ответ нецелевых поражений	Новые поражения	Общий ответ
ПО	Нет	ПО
не-ПО/ не-ПЗ	Нет	не-ПО/ не-ПЗ[1)]
Не все оценивалось	Нет	НО
Однозначно ПЗ	Да или нет	ПЗ
Любое	Да	ПЗ

CR=полный ответ, SD=стабильное заболевание, PD=прогрессирующее заболевание, NE=не оценивалось.

“Не-ПО/не-ПЗ” предпочтительнее, чем «стабильное заболевание» для нецелевого заболевания

[00178] Что касается оценки целевых поражений, полный ответ (ПО) представляет собой исчезновение всех целевых поражений, частичный ответ (ЧО) представляет собой как минимум 30%-ное уменьшение суммы наибольшего диаметра целевых поражений, принимая в качестве эталона исходный уровень суммы наибольшего диаметра, прогрессирующее заболевание (ПЗ) представляет собой как минимум 20%-ное увеличение суммы наибольшего диаметра целевых поражений, принимая в качестве эталона наименьшую сумму наибольшего диаметра, зарегистрированную с момента начала лечения или появления одного или более новых поражений, и стабильное заболевание (СЗ) не является ни достаточным уменьшением, чтобы квалифицироваться как частичный ответ, ни достаточным увеличением, чтобы квалифицироваться как прогрессирующее заболевание, принимая за эталон наименьшую сумму самого наибольшего диаметра с момента начала лечения.

[00179] Что касается оценки нецелевых поражений, ПО представляет собой исчезновение всех нецелевых поражений и нормализацию уровня опухолевых маркеров, неполный ответ/не-ПО/не-ПЗ представляет собой сохранение одного или более нецелевых

поражений и/или поддержание уровня опухолевых маркеров выше нормальных пределов, а ПЗ представляет собой появление одного или более новых поражений и/или однозначное прогрессирование существующих нецелевых поражений.

[00180] Рекомендации по критериям ответа для использования в испытаниях по тестированию иммунотерапевтических средств (Seymour et al. Lancet Oncol. 2017;18:e143-e152) можно получить онлайн по ссылке: https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(17)30074-8

[00181] В некоторых вариантах осуществления лечение солидных опухолей можно оценивать по изменениям статуса эффективности Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) (также называемого ECOG PS) (Oken et al. Am J Clin Oncol. 1982;5(6):649-55). Используемый в данном документе ECOG PS определяется следующим образом.

Оценка ECOG PS	Описание
0	Полностью активен, способен выполнять все, как и до заболевания без ограничения
1	Ограничен в физически напряженной деятельности но амбулаторно и способен выполнять работу легкого или сидячего характера, *например*, легкая работа по дому, офисная работа.
2	Проходит лечение амбулаторно и способен к самообслуживанию, но не может выполнять какую-либо работу. Более 50% времени бодрствования проводит активно - в вертикальном положении.
3	Способен лишь к ограниченному самообслуживанию, проводит в кресле или постели более 50% времени бодрствования.
4	Полностью нетрудоспособный. Совершенно не способен к самообслуживанию. Полностью прикован к постели или креслу
5	Мертв

[00182] В некоторых вариантах осуществления эффективность лечения НХЛ оценивается в соответствии с «критериями Лугано», которые включают критерии ответа Международной рабочей группы (IWG) для НХЛ (Cheson BD, et al., J Clin Oncol. 32(27):3059-3068 (2014)) и критериями Довиля для интерпретации сканирования флюородезоксиглюкозо-позитронно-эмиссионной томографии (ФДГ-ПЭТ) (Itti E, et al., Eur J Nucl Med Mol Imaging. 40(9):1312-20 (2013)). В данном контексте «критерии Лугано» включают в себя критерии первоначальной оценки поражения участка и критерии оценки ответов, которые более подробно описаны в двух абзацах ниже.

[00183] Критерии поражения участка

Участок ткани	**Клиническое**	**Авидность**	**Исследование**	**Положительный**

	выявление	**ФДГ**		**обнаружения**
Лимфатические узлы	Пальпируемый	ФДГ-авидные гистологии Низкоавидное заболевание	ПЭТ-КТ КТ	Увеличение поглощения ФДГ Необъяснимое увеличение узла
Селезенка	Пальпируемый	ФДГ-авидные гистологии Низкоавидное заболевание	ПЭТ-КТ КТ	Поглощение посредством диффузии, солитарная масса, милиарные поражения, узлы > 13 см в длину по вертикали, масса, узлы
Печень	Пальпируемый	ФДГ-авидные гистологии Низкоавидное заболевание	ПЭТ-КТ КТ	Поглощение посредством диффузии, масса Узлы
ЦНС	Проявления, симптомы		КТ МРТ Оценка СМЖ	Новообразование(я) Лептоменингеальная инфильтрация, новообразования Цитология, проточная цитометрия
Другое (например, кожа, легкие, ЖК тракт, кость, костный	Зависит от участка		ПЭТ-КТ[a], биопсия	Поражения лимфомой

мозг)				

ЦНС=центральная нервная система; СМЖ=спинномозговая жидкость; КТ=компьютерная томография; ФДГ=фтор-дезоксиглюкоза; ЖК=желудочно-кишечный; МТР=магнитно-резонансная томография; ПЭТ=позитронно-эмиссионная томография.

[a] ПЭТ-КТ подходит для определения поражения костного мозга и может считаться весьма рекомендованным для поражений других экстралимфатических участков. Подтверждение биопсии этих участков можно рассматривать при необходимости.

[00184] Критерии для оценки ответа

ОТВЕТ И УЧАСТОК	ОТВЕТ НА ОСНОВЕ ПЭТ-КТ	ОТВЕТ НА ОСНОВЕ КТ
Полный	**Полный метаболический ответ**	**Полный рентгенологический ответ (все следующее)**
Лимфатические узлы и экстралимфатические участки	Оценка 1, 2 или 3[a] с остаточной массой по 5PSb[b] или без нее Признано, что в кольце Вальдейера или экстранодальных участках с высоким физиологическим поглощением или при активации в селезенке или костном мозге (например, при химиотерапии или миелоидных колониестимулирующих факторах) поглощение может быть больше, чем в нормальном средостении и/или печени. В этом случае о полном метаболическом ответе можно говорить, если поглощение в местах первоначального поражения не превышает уровень окружающей нормальной ткани, даже если ткань имеет высокое физиологическое поглощение.	Целевые узлы/узловые новообразования должны регрессировать до ≤ 1,5 см в LDi Отсутствие внелимфатических очагов заболевания
Неизмеряемое поражение	Не применимо	Отсутствует
Увеличение	Не применимо	Возврат к норме

органа		
Новые поражения	Нет	Нет
Костный мозг	Отсутствие признаков ФДГ-авидного заболевания в костном мозге	Нормальный по морфологии; если неопределенный, ИГХ отрицательная
Частичный	**Частичный метаболический ответ**	**Частичная ремиссия (все из перечисленного ниже)**
Лимфатические узлы и экстралимфатические участки	Оценка 4 или 5[b] со снижением поглощения по сравнению с исходным уровнем и остаточной новообразованием(ями) любого размера На промежуточном этапе эти данные позволяют предположить, что болезнь реагирует По окончании лечения эти результаты указывают на остаточное заболевание	≥ 50% уменьшения суммы перпендикулярных диаметров (СПД) до 6 целевых измеримых узлов и экстранодальных участков Если очаг поражения слишком мал для измерения на КТ, назначьте значение по умолчанию 5 мм × 5 мм. Если больше не видимый, 0 × 0 мм Для узла > 5 мм × 5 мм, но меньше обычного, используйте фактическое измерение для расчета
Неизмеряемое поражение	Не применимо	Отсутствует/нормальный, регрессирует, но не увеличивается
Увеличение органа	Не применимо	Селезенка должна иметь регрессию > 50% длины по сравнению с нормой
Новые поражения	Нет	Нет
Костный мозг	Остаточное поглощение выше, чем поглощение в нормальном костном мозге, но снижено по сравнению с исходным уровнем (допускается	Не применимо

	диффузное поглощение, совместимое с реактивными изменениями после химиотерапии). При наличии стойких очаговых изменений в костном мозге на фоне узлового ответа следует рассмотреть возможность дальнейшего обследования с помощью МРТ, биопсии или интервального сканирования.	
Отсутствие ответа или стабильное заболевание	**Отсутствие метаболического ответа**	**Стабильное заболевание**
Целевые узлы/узловые новообразования, экстранодальные поражения	Оценка 4 или 5[b] без значительных изменений в поглощении ФДГ по сравнению с исходным уровнем в промежуточный период или в конце лечения	< 50% снижения от исходного уровня СПД до 6 доминирующих измеримых узлов и экстранодальных участков; отсутствуют критерии прогрессирующего заболевания
Неизмеряемое поражение	Не применимо	Отсутствие увеличения, соответствующего прогрессированию
Увеличение органа	Не применимо	Отсутствие увеличения, соответствующего прогрессированию
Новые поражения	Нет	Нет
Костный мозг	Без изменений по сравнению с исходным уровнем	Не применимо
Прогрессирующее заболевание	**Прогрессирующий метаболический ответ**	**Прогрессирующее заболевание требует наличия по крайней мере 1 из следующих пунктов**
Отдельные целевые	Оценка 4 или 5[b] с увеличением интенсивности поглощения по	Прогрессирование PPD: Отдельный

узлы/узловые новообразования, экстранодальные поражения	сравнению с исходным уровнем и/или Новые ФДГ-авидные очаги, соответствующие лимфоме, при промежуточной или конечной оценке лечения	лимфоузел/поражение должно быть ненормальным с: LDi > 1,5 см и Увеличение на ≥ 50% от самого низкого уровня PPD и Увеличение LDi или SDi от самого низкого уровня 0,5 см для поражений ≤ 2 см 1,0 см для поражений > 2 см При наличии спленомегалии длина селезенки должна увеличиться на > 50% от степени ее предыдущего увеличения по сравнению с исходным уровнем (например, селезенка размером 15 см должна увеличиться до > 16 см). При отсутствии предшествующей спленомегалии увеличение должно быть не менее чем на 2 см по сравнению с исходным уровнем Новая или рецидивирующая спленомегалия
Неизмеряемые поражения	Нет	Новые или явное прогрессирование ранее существовавших неизмеряемых поражений
Новые поражения	Новые ФДГ-авидные очаги, соответствующие лимфоме, а не другой этиологии (например, инфекция, воспаление). Если нет уверенности в этиологии новых поражений, можно рассмотреть возможность проведения биопсии или интервального сканирования	Возобновление роста ранее вернувшихся к норме поражений. Новый узел > 1,5 см по любой оси Новый экстранодальный участок > 1,0 см по любой оси, если < 1,0 см по любой оси, его наличие должно быть однозначным и

		должно быть связано с лимфомой Оцениваемое заболевание любого размера, однозначно связанное с лимфомой
Костный мозг	Новые или рецидивирующие ФДГ-авидные очаги	Новое или рецидивирующее поражение

5PS=5-балльная шкала; КТ=компьютерная томография; ФДГ=фтор-дезоксиглюкоза; ЖКТ=желудочно-кишечный тракт; ИГХ=иммуногистохимия; LDi=самый длинный поперечный диаметр поражения; МРТ=магнитно-резонансная томография; ПЭТ=позитронно-эмиссионная томография; PPD=векторное произведение диаметра LDi и перпендикулярного диаметра; SDi=кратчайшая ось, перпендикулярная к LDi; СПД=сумма произведения перпендикулярных диаметров при множественных поражениях.

[a] Оценка 3 у многих субъектов указывает на хороший прогноз при стандартном лечении, особенно во время промежуточного сканирования. Однако в исследованиях с применением ПЭТ, где исследуется деэскалация, может быть предпочтительнее рассматривать оценку 3 как неадекватный ответ (во избежание недостаточного лечения). Измеренные доминантные поражения: до шести самых крупных доминантных узлов, новообразований в узлах и экстранодальных новообразований, выбранных так, чтобы их можно было четко измерить по двум наибольшим линейным размерам. Узлы предпочтительно должны быть из разных частей тела и должны включать, где это возможно, средостенные и забрюшинные области. Поражения не в узлах включают поражения солидных органов (например, печени, селезенки, почек и легких), поражения желудочно-кишечного тракта, кожные поражения или поражения, обнаруженные при пальпации. Неизмеряемые поражения: любое заболевание, не выбранное в качестве измеряемого, доминирующего и действительно поддающегося оценке, следует рассматривать как неизмеряемое. Эти участки включают любые узлы, новообразования в узлах и экстранодальные участки, не выбранные в качестве доминирующих или измеряемых, или не отвечающие требованиям измеряемости, но все еще считающиеся аномальными, а также действительно поддающееся оценке заболевание, которое представляет собой любой участок с подозрением на заболевание, которое трудно проследить количественно с помощью измерения, включая плевральный выпот, асцит, поражения костей, лептоменингеальную болезнь, новообразования в брюшной полости и другие поражения, которые невозможно подтвердить и проследить с помощью визуализации. В кольце Вальдейера или в экстранодальных участках (например, желудочно-кишечный тракт, печень, костный мозг) поглощение ФДГ может быть больше, чем в средостении с полным метаболическим ответом, но не должно быть выше, чем окружающее нормальное физиологическое поглощение (например, при активации костного мозга в результате химиотерапии или миелоидных факторов роста).

[b] ПЭТ 5PS: 1, нет поглощения выше фонового уровня; 2, поглощение < средостения; 3, поглощение > средостения, но < печени; 4, поглощение умеренное > печени; 5, поглощение заметно выше, чем в печени и/или новых поражениях; X, новые области поглощения вряд ли связаны с лимфомой.

[00185] Пятибалльная шкала Довиля (5PS) - это международно рекомендованная шкала для рутинных клинических испытаний и клинических испытаний с использованием ФДГ-ПЭТ/КТ в начальной стадии и оценке ответа на лечение при лимфоме Ходжкина (ХЛ) и некоторых типах НХЛ (*см.* Itti E, et al., Eur J Nucl Med Mol Imaging. 40(9):1312-20 (2013); Meignan M, et al., Leuk Lymphoma. 55(1):31-7 (2014)).

[00186] Пятибалльная шкала Довиля - простой инструмент, основанный на визуальной интерпретации поглощения ФДГ. Он использует преимущества двух эталонных точек отдельного пациента, которые продемонстрировали относительно постоянное поглощение на серийных изображениях. Два эталонных органа - это средостение (также известное пул крови) и печень. Шкала варьируется от 1 до 5, где 1 - наилучший, а 5 - наихудший, как указано ниже. Каждое ФДГ-авидное (или ранее ФДГ-авидное) поражение оценивается независимо.

1. нет поглощения или нет остаточного поглощения (при промежуточном применении)

2. незначительное поглощение, но ниже пула крови (средостение)

3. поглощение выше средостения, но ниже или равно поглощению в печени

4. поглощение от незначительного до умеренно более высокого, чем в печени

5. заметно увеличивает поглощение или любое новое поражение (при оценке ответа)

[00187] В некоторых вариантах осуществления ответ на лечение по пятибалльной шкале Довиля оценивают следующим образом:

Полный ответ (ПО): оценка 1, 2 или 3 вместе с отсутствием ФДГ-активных поражений костного мозга интерпретируются как полный метаболический ответ (ПО), независимо от стойкого новообразования на КТ

частичный ответ (ЧО): оценка по Довилю 4 или 5, при условии:

поглощение снижено по сравнению с исходным уровнем и

отсутствие развития структурной прогрессии на КТ

стабильное заболевание (СЗ), также называемое отсутствием метаболического ответа: 4 или 5 баллов по Довилю без значительного изменения поглощения ФДГ по сравнению с исходным уровнем.

прогрессирующее заболевание (ПЗ): оценка по Довилю от 4 до 5 с возрастающей интенсивностью по сравнению с исходным уровнем или любым промежуточным сканированием и/или любым новым ФДГ-авидным очагом, соответствующим злокачественной лимфоме.

[00188] В контексте рака «рефрактерный» рак, например рефрактерная НХЛ, рефрактерная фолликулярная лимфома или рефрактерная DLBCL, представляет собой

рак, который не поддается лечению. Таким образом, термин «рефрактерный рак» включает раковые заболевания, при которых не наблюдаются ожидаемые эффекты начального лечения. Рефрактерный рак может быть раком, который ухудшается или остается прежним. «Рецидивирующий» рак, например, рецидивирующая НХЛ, рецидивирующая фолликулярная лимфома или рецидивирующая DLBCL - это рак, который ответил на лечение, например, прекратил прогрессировать, прогрессировал медленнее, чем при отсутствии лечения, регрессировал или даже почти или полностью исчез, но затем перестает отвечать или вернулся.

[00189] В контексте полипептида термин «аналог», употребляемый в данном документе, относится к полипептиду, который обладает сходной или идентичной функцией с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα или антителом к SIRPα, но не обязательно содержит сходную или идентичную аминокислотную последовательность с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα или антителом к SIRPα, или обладает сходной или идентичной структурой с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα или антителом к SIRPα. Полипептид, имеющий аналогичную аминокислотную последовательность, относится к полипептиду, который удовлетворяет по меньшей мере одному из следующих условий: (a) полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности полипептида SIRPα, фрагмента полипептида SIRPα или антитела к SIRPα, предложенных в данном документе; (b) полипептид, кодируемый нуклеотидной последовательностью, которая гибридизируется в жестких условиях с нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα или антитело к SIRPα (или его VH- или VL-область), описанные в данном документе, по меньшей мере 5 аминокислотных остатков, по меньшей мере 10 аминокислотных остатков, по меньшей мере 15 аминокислотных остатков, по меньшей мере 20 аминокислотных остатков, по меньшей мере 25 аминокислотных остатков, по меньшей мере 30 аминокислотных остатков, по меньшей мере 40 аминокислотных остатков, по меньшей мере 50 аминокислотных остатков, по меньшей мере 60 аминокислотных остатков, по меньшей мере 70 аминокислотных остатков, по меньшей мере 80 аминокислотных остатков, по меньшей мере 90 аминокислотных остатков, по меньшей мере 100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 125 аминокислотных остатков или по меньшей мере 150 аминокислотных остатков (*смотрите, например*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2001); и Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1982)); или (c) полипептид, кодируемый нуклеотидной последовательностью, которая на по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей

мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% идентична нуклеотидной последовательности, кодирующей полипептид SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα или антитело к SIRPα (или его область VH или VL), описанные в данном документе. Полипептид со сходной структурой с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα или антителом к SIRPα, предложенными в описанная, относится к полипептиду, который имеет сходную вторичную, третичную или четвертичную структуру с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα или антителом к SIRPα, предложенными в данном документе. Структура полипептида может быть определена способами, известными специалистам в данной области техники, включая, но не ограничиваясь этим, рентгеноструктурную кристаллографию, ядерный магнитный резонанс и кристаллографическую электронную микроскопию.

[00190] В контексте полипептида термин «производное», употребляемый в данном документе, относится к полипептиду, который содержит аминокислотную последовательность полипептида SIRPα, фрагмента полипептида SIRPα или антитела, которое связывается с полипептидом SIRPα, которая была изменена путем внесения замен, делеций или добавлений аминокислотных остатков. В контексте данного документа термин «производное» также относится к полипептиду SIRPα, фрагменту полипептида SIRPα или антителу, которое связывается с полипептидом SIRPα, которые были химически модифицированы, *например*, например путем ковалентного присоединения молекулы любого типа к полипептиду. Например, но не в качестве ограничения, полипептид SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα или антитело к SIRPα можно химически модифицировать, *например*, гликозилированием, ацетилированием, пегилированием, фосфорилированием, амидированием, дериватизацией известными защитными/блокирующими группами, протеолитическим расщеплением, химическим расщеплением, формилированием, метаболическим синтезом туникамицина, связыванием с клеточным лигандом или другим белком и *т. д.* Производные модифицированы способом, который отличается от встречающихся в природе или исходных пептидов или полипептидов по типу или расположению присоединяемых молекул. Производные дополнительно включают делецию одной или более химических групп, которые в естественном состоянии присутствуют в пептиде или полипептиде. Кроме того, производное полипептида SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα или антитело к SIRPα могут содержать одну или более неклассических аминокислот. Полипептидное производное обладает сходной или идентичной функцией с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα или антителом к SIRPα, описанным в данном документе.

[00191] Предполагается, что термин «композиция» включает продукт, содержащий определенные ингредиенты (*например*, предложенное в данном документе антитело) в, необязательно, определенных количествах.

4.3 **Композиции и способы их получения**

[00192] В данном документе предложены антитела, которые связываются с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα, пептидом SIRPα или эпитопом SIRPα.

[00193] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в настоящем документе, связываются с SIRPα человека и/или макака. В одном варианте осуществления антитела к SIRPα связываются с SIRPα человека. В одном варианте осуществления антитела к SIRPα связываются с SIRPα макака. В одном варианте осуществления антитела к SIRPα связывают как с SIRPα человека, так и с SIRPα макака. В других вариантах осуществления предложенные в данном документе антитела не связываются с SIRPα грызуна.

[00194] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα связывают с внеклеточным доменом (ВКД) SIRPα. В определенных вариантах осуществления антитела к SIRPα связываются с эпитопом в ВКД SIRPα, который перекрывается с сайтом связывания CD47. В определенных вариантах осуществления антитела к SIRPα связываются с эпитопом в ВКД SIRPα, который такой же, как сайт связывания CD47.

[00195] Также предложены антитела, которые конкурентно блокируют антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, от связывания с полипептидом SIRPα.

[00196] Также предложены антитела, которые конкурируют за связывание полипептида SIRPα с антителом к SIRPα, предложенным в данном документе.

[00197] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα не блокируют связывание CD47 с полипептидом SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα конкурируют за связывание CD47 с полипептидом SIRPα.

[00198] В некоторых вариантах осуществления связывание CD47 к SIRPα ингибируется антителами, предложенными в данном документе. В других вариантах осуществления связывание CD47 к SIRPα блокируется антителами, предложенными в данном документе.

[00199] Антитела к SIRPα, предложенные в данном документе, также могут быть коньюгированными или рекомбинантно слитыми, *например*, с выявляемым агентом. Дополнительно предложены композиции, содержащие антитело к SIRPα.

[00200] Также в настоящем документе предложены изолированные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие иммуноглобулиновую тяжелую цепь, легкую цепь, область VH, область VL, CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL и/или CDR3 VL антитела к SIRPα, которые связывают полипептид SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα, пептид SIRPα или эпитоп SIRPα.

[00201] Далее предложены векторы и клетки-хозяева, содержащие молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитела к SIRPα, которые связываются с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα, пептидом SIRPα или эпитопом SIRPα. Также предложены способы получения антитела, которые связываются с полипептидом SIRPα, фрагментом полипептида SIRPα, пептидом SIRPα или эпитопом SIRPα.

4.3.1 **Антитела к SIRPα**

[00202] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложены антитела к SIRPα, которые можно применять в качестве лекарственных средств. Типовые антитела включают поликлональные, моноклональные, гуманизированные, человеческие, биспецифические и гетероконъюгированные антитела, а также их варианты, имеющие улучшенную аффинность или другие свойства.

[00203] В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе предложены антитела, которые связывают с SIRPα, включая полипептид SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα, пептид SIRPα или эпитоп SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в настоящем документе, связываются с SIRPα человека и/или макака. В других вариантах осуществления антитела, предложенные в настоящем документе, не связываются с SIRPα грызуна (*например*, SIRPα мыши). В одном варианте осуществления антитело, предложенное в настоящем документе, связывается с SIRPα человека. В другом варианте осуществления антитело, предложенное в данном документе, связывается с SIRPα макака. В другом варианте осуществления антитело, предложенное в данном документе, связывается с SIRPα человека и SIRPα макака. В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело связывается с SIRPα человека и не связывается с SIRPα грызуна (*например*, SIRPα мыши). В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, связывается с SIRPα макака и не связывается с SIRPα грызуна (*например*, SIRPα мыши). В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, связывается с SIRPα человека, связывается с SIRPα макака и не связывается с SIRPα грызуна (*например*, SIRPα мыши). В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα блокируют или ингибируют связывание CD47 с полипептидом SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα конкурируют с CD47 за связывание с полипептидом SIRPα. В других вариантах осуществления антитела к SIRPα представляют собой человеческие или гуманизированные антитела (*например*, содержащие человеческие константные области), которые связывают SIRPα, включая полипептид SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα, пептид SIRPα или эпитоп SIRPα.

[00204] В определенных вариантах осуществления антитело к SIRPα содержит область VH, область VL, CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL и/или CDR3 VL любого из моноклональных антител, описанных в данном документе, таких как аминокислотная последовательность, показанная в **Таблицах 1-4 и 9-10**. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или его функциональный фрагмент, представленные в настоящем документе, включают одну, две и/или три CDR тяжелой цепи и/или одну, две и/или три CDR легкой цепи из: (a) антитела SIRPAB-1, (b) антитела SIRPAB-2, (c) антитела SIRPAB-3, (d) антитела SIRPAB-4, (e) антитела SIRPAB-5, (f) антитела SIRPAB-6, (g) антитела SIRPAB-7, (h) антитела SIRPAB-8, (i) антитела SIRPAB-9, (j) антитела SIRPAB-10, (k) антитела SIRPAB-11, (l) антитела SIRPAB-12, (m) антитела SIRPAB-13, (n) антитела SIRPAB-17, (o) антитела SIRPAB-18, (p) антитела

SIRPAB-19, (q) антитела SIRPAB-20 или (r) антитела SIRPAB-21, как показано в **Таблицах 1-2**.

Таблица 1. Аминокислотные последовательности CDR VL

Антитело	**VL CDR1 (SEQ ID NO:)**	**VL CDR2 (SEQ ID NO:)**	**VL CDR3 (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-1	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLAT (SEQ ID NO:13)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-2	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLAT (SEQ ID NO:13)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-3	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLAT (SEQ ID NO:13)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-4	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLAT (SEQ ID NO:13)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-5	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLAT (SEQ ID NO:13)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-6	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLET (SEQ ID NO:43)	QQFAYLPYT (SEQ ID NO:44)
SIRPAB-7	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLET (SEQ ID NO:43)	QQFAYLPYT (SEQ ID NO:44)
SIRPAB-8	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:62)	AASNLQS (SEQ ID NO:63)	QQGASFPIT (SEQ ID NO:65)
SIRPAB-9	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:62)	AASNLQS (SEQ ID NO:63)	QQGASFPIT (SEQ ID NO:65)
SIRPAB-10	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:62)	AASNLQS (SEQ ID NO:63)	QQGASFPIT (SEQ ID NO:65)
SIRPAB-11	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:62)	AASNLQS (SEQ ID NO:63)	QQGASFPIT (SEQ ID NO:65)
SIRPAB-12	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:62)	AASNLQS (SEQ ID NO:63)	QQGASFPIT (SEQ ID NO:65)
SIRPAB-13	RASQGISSWLA (SEQ ID NO:62)	AASNLQS (SEQ ID NO:63)	QQGASFPIT (SEQ ID NO:65)
SIRPAB-17	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLAT (SEQ ID NO:13)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-18	QASQDISNYLN (SEQ ID NO:11)	DASNLAT (SEQ ID NO:13)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)

SIRPAB-19	QASDDISDYLN (SEQ ID NO:130)	DASNIED (SEQ ID NO:131)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-20	QASQDISDYLN (SEQ ID NO:135)	DADNLET (SEQ ID NO:136)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)
SIRPAB-21	QASDDISDYLN (SEQ ID NO:130)	DASNLET (SEQ ID NO:43)	QQFAYLPWT (SEQ ID NO:15)

Таблица 2. Аминокислотные последовательности CDR VH

Антитело	**VH CDR1 (SEQ ID NO:)**	**VH CDR2 (SEQ ID NO:)**	**VH CDR3 (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-1	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:2)	SIYYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:4)	AREGYHSGMDV (SEQ ID NO:6)
SIRPAB-2	GSISSGGDYWA (SEQ ID NO:19)	YIYPSGFTYYNPSLKS (SEQ ID NO:20)	AREGYHSGMDV (SEQ ID NO:6)
SIRPAB-3	GSISSGGWYWQ (SEQ ID NO:24)	TIYYSGSTFYNPSLKS (SEQ ID NO:25)	AREGYHSGMDV (SEQ ID NO:6)
SIRPAB-4	GSISSGSPYWS (SEQ ID NO:29)	YIYASGFTYYNPSLKS (SEQ ID NO:30)	AREGYHSGMDV (SEQ ID NO:6)
SIRPAB-5	GSISSGPAYWS (SEQ ID NO:34)	TIYYSGSTFYNPSLKS (SEQ ID NO:25)	AREGYHSGMDV (SEQ ID NO:6)
SIRPAB-6	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:2)	YIYYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:38)	AREGLDGSYGSSA (SEQ ID NO:39)
SIRPAB-7	GSISSGEYYWE (SEQ ID NO:47)	YIYSSGFTYYNPSLKS (SEQ ID NO:48)	AREGLDGSYGSSA (SEQ ID NO:39)
SIRPAB-8	YTFTSYGIS (SEQ ID NO:53)	WISPYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID NO:55)	AREAGSSWYDFDL (SEQ ID NO:57)
SIRPAB-9	YTFGGYGIS (SEQ ID NO:68)	WISAYGGETNYAQKLQG (SEQ ID NO:69)	AREAGSSWYDFDL (SEQ ID NO:57)
SIRPAB-10	YTFTGYPIS (SEQ ID NO:73)	WIYAYGGNTNYAQKLQG (SEQ ID NO:74)	AREAGSSWYDFDL (SEQ ID NO:57)

SIRPAB-11	YTFRGYGIS (SEQ ID NO:78)	WISAYGGETNYAQKLQG (SEQ ID NO:69)	AREAGSSWYDFDL (SEQ ID NO:57)
SIRPAB-12	YTFTGYGIV (SEQ ID NO:82)	WISAYAGETNYAQKLQG (SEQ ID NO:83)	AREAGSSWYDFDL (SEQ ID NO:57)
SIRPAB-13	YTFHGYGIS (SEQ ID NO:87)	WISAYSGETNYAQKLQG (SEQ ID NO:88)	AREAGSSWYDFDL (SEQ ID NO:57)
SIRPAB-17	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:2)	AIYYSGPIYYNPSLKS (SEQ ID NO:121)	AREGYHSGMDV (SEQ ID NO:6)
SIRPAB-18	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:2)	AIYYSGPIYYNPSLKS (SEQ ID NO:121)	SKEGYHSGMDV (SEQ ID NO:125)
SIRPAB-19	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:2)	AIYYSGPIYYNPSLKS (SEQ ID NO:121)	SKEGYHSGMDV (SEQ ID NO:125)
SIRPAB-20	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:2)	AIYYSGPIYYNPSLKS (SEQ ID NO:121)	SKEGYHSGMDV (SEQ ID NO:125)
SIRPAB-21	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:2)	AIYYSGPIYYNPSLKS (SEQ ID NO:121)	SKEGYHSGMDV (SEQ ID NO:125)

[00205] В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело содержит или состоит из шести CDR, например, CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL и/или CDR3 VL, определенных в **Таблицах 1-2**. В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело может содержать менее шести CDR. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит или состоит из одной, двух, трех, четырех или пяти CDR, выбранных из группы, состоящей из CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL и/или CDR3 VL, определенных в **Таблицах 1-2**. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит или состоит из одной, двух, трех, четырех или пяти CDR, выбранных из группы, состоящей из CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL и/или CDR3 VL моноклонального антитела, выбранного из группы, состоящей из: (a) антитела SIRPAB-1, (b) антитела SIRPAB-2, (c) антитела SIRPAB-3, (d) антитела SIRPAB-4, (e) антитела SIRPAB-5, (f) антитела SIRPAB-6, (g) антитела SIRPAB-7, (h) антитела SIRPAB-8, (i) антитела SIRPAB-9, (j) антитела SIRPAB-10, (k) антитела SIRPAB-11, (l) антитела SIRPAB-12, (m) антитела SIRPAB-13, (n) антитела SIRPAB-17, (o) антитела SIRPAB-18, (p) антитела SIRPAB-19, (q) антитела SIRPAB-20 или (r) антитела SIRPAB-21, описанных в данном документе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит или состоит из одной, двух, трех, четырех или пяти CDR любой из CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2

VL и/или CDR3 VL, определенных в **Таблицах 1-2**.

[00206] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат одну или более (*например*, одну, две или три) CDR VH, приведенных в **Таблице 2**. В других вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат одну или более (*например*, одну, две или три) CDR VL, приведенных в **Таблице 1**. В других вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат одну или более (*например*, одну, две или три) CDR VH, приведенных в **Таблице 2**, и одну или более CDR VL, приведенных в **Таблице 1**. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитела содержат CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательностью любой из SEQ NO: 78 и 82. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательностью любой из SEQ NO: 69 и 83. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат CDR1 VH и/или CDR2 VH, и/или CDR3 VH, независимо выбранные из любой из аминокислотных последовательностей CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, приведенных в **Таблице 2**. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. В другом варианте осуществления антитела содержат CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат CDR1 VL и/или CDR2 VL, и/или CDR3 VL, независимо выбранные из любой из аминокислотных последовательностей CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, приведенных в **Таблице 1**.

[00207] В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VH, содержащую: (1) CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78; (2) CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69; и (3) CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и область VL, содержащую: (1) CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; (2) CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; и (3) CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00208] В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VH, содержащую: (1) CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82; (2) CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83; и (3) CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и область VL, содержащую: (1) CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; (2) CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; и (3) CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00209] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VH, содержащую: (1) CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:78; (2) CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; и (3) CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

[00210] В других вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VL, содержащую: (1) CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; (2) CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; и (3) CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00211] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VH, содержащую: (1) CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:82; (2) CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; и (3) CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

[00212] Также в данном документе предложены антитела, содержащие одну или более (*например*, одну, две или три) CDR VH и одну или более (*например*, одну, две или три) CDR VL, перечисленных в **Таблицах 1-2**. В частности, в данном документе предложено антитело, содержащее CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82) и CDR1 VL (SEQ ID NO:62). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR1 VL (SEQ ID NO:78 или 82) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83) и CDR1 VL (SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83) и CDR2 VL (SEQ ID NO: 63). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR2 VL (SEQ ID NO:69 или 83) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR1 VL (SEQ ID NO: 62). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR2 VL (SEQ ID NO: 63). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83) и CDR1 VL (SEQ ID NO:62). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR1 VL (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VL (SEQ ID NO:69 или 83) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR1 VL (SEQ ID NO:62). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR2 VL (SEQ ID NO: 63). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR3 VL (SEQ

ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR1 VL (SEQ ID NO:62). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR2 VL (SEQ ID NO: 63). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO:57) и CDR1 VL (SEQ ID NO:62). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR1 VL (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO:57) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO:57), и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR1 VL (SEQ ID NO:62) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR1 VL (SEQ ID NO:78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR2 VL (SEQ ID NO:63) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO:62) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO:62) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ

ID NO:62) и CDR2 VL (SEQ ID NO:63). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO:62) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR2 VL (SEQ ID NO:63) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR2 VL (SEQ ID NO: 63). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В одном варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR2 VL (SEQ ID Нет: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO: 78 или 82), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO: 69 или 83), CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR1 VH (SEQ ID NO:78 или 82), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62), CDR2 VL (SEQ ID NO:63) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В другом варианте осуществления антитело содержит CDR2 VH (SEQ ID NO:69 или 83), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62), CDR2 VL (SEQ ID NO:63) и CDR3 VL (SEQ ID NO:65). В других вариантах осуществления антитело содержит CDR3 VH (SEQ ID NO: 57), CDR1 VL (SEQ ID NO: 62), CDR2 VL (SEQ ID NO: 63) и CDR3 VL (SEQ ID NO: 65). В другом варианте осуществления антитело содержит любую комбинацию CDR VH и CDR VL, перечисленных в **Таблицах 1-2**.

[00213] В другом аспекте описанные в данном документе CDR содержат консенсусные последовательности, полученные из групп родственных антител (*см., например*, **Таблицы 1-2**). В контексте данного документа «консенсусная последовательность» относится к аминокислотным последовательностям, имеющим консервативные аминокислоты, общие для некоторого числа последовательностей, и вариабельные аминокислоты, которые варьируются в пределах заданных аминокислотных последовательностей.

[00214] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или его функциональный фрагмент, представленные в настоящем документе, дополнительно включают одну, две, три и/или четыре FR тяжелой цепи и/или одну, две, три и/или четыре FR легкой цепи из: (a) антитела SIRPAB-1, (b) антитела SIRPAB-2, (c) антитела SIRPAB-3, (d) антитела SIRPAB-4, (e) антитела SIRPAB-5, (f) антитела SIRPAB-6, (g) антитела SIRPAB-7, (h) антитела SIRPAB-8, (i) антитела SIRPAB-9, (j) антитела SIRPAB-10, (k)

антитела SIRPAB-11, (l) антитела SIRPAB-12, (m) антитела SIRPAB-13, (n) антитела SIRPAB-17, (o) антитела SIRPAB-18, (p) антитела SIRPAB-19, (q) антитела SIRPAB-20 или (r) антитела SIRPAB-21, как показано в **Таблицах 3-4**.

Таблица 3. Аминокислотные последовательности FR VL

Антитело	**FR1 VL (SEQ ID NO:)**	**FR2 VL (SEQ ID NO:)**	**FR3 VL (SEQ ID NO:)**	**FR4 VL (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-6	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:197)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)

Антитело	**FR1 VL (SEQ ID NO:)**	**FR2 VL (SEQ ID NO:)**	**FR3 VL (SEQ ID NO:)**	**FR4 VL (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-7	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:197)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-8	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:61)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:64)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-9	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:61)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:64)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-10	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:61)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:64)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-11	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:61)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:64)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-12	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:61)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:64)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-13	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:61)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:64)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)

Антитело	**FR1 VL (SEQ ID NO:)**	**FR2 VL (SEQ ID NO:)**	**FR3 VL (SEQ ID NO:)**	**FR4 VL (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-17	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
SIRPAB-21	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:10)	WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO:14)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:16)

Таблица 4. Аминокислотные последовательности FR VH

Антитело	**FR1 VH (SEQ ID NO:)**	**FR2 VH (SEQ ID NO:)**	**FR3 VH (SEQ ID NO:)**	**FR4 VH (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-2	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)

Антитело	**FR1 VH (SEQ ID NO:)**	**FR2 VH (SEQ ID NO:)**	**FR3 VH (SEQ ID NO:)**	**FR4 VH (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-3	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-4	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-5	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-6	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:40)
SIRPAB-7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:40)
SIRPAB-8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:52)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:54)	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC (SEQ ID NO:56)	WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:58)
SIRPAB-9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:52)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:54)	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC (SEQ ID NO:56)	WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:58)
SIRPAB-10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:52)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:54)	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC (SEQ ID NO:56)	WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:58)

Антитело	**FR1 VH (SEQ ID NO:)**	**FR2 VH (SEQ ID NO:)**	**FR3 VH (SEQ ID NO:)**	**FR4 VH (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:52)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:54)	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC (SEQ ID NO:56)	WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:58)
SIRPAB-12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:52)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:54)	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC (SEQ ID NO:56)	WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:58)
SIRPAB-13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:52)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:54)	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC (SEQ ID NO:56)	WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:58)
SIRPAB-17	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-18	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-19	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-20	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)
SIRPAB-21	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG (SEQ ID NO:1)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO:3)	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO:5)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:7)

[00215] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или его

функциональный фрагмент, представленные в настоящем документе, дополнительно включают одну, две, три и/или четыре FR тяжелой цепи из: (a) антитела SIRPAB-1, (b) антитела SIRPAB-2, (c) антитела SIRPAB-3, (d) антитела SIRPAB-4, (e) антитела SIRPAB-5, (f) антитела SIRPAB-6, (g) антитела SIRPAB-7, (h) антитела SIRPAB-8, (i) антитела SIRPAB-9, (j) антитела SIRPAB-10, (k) антитела SIRPAB-11, (l) антитела SIRPAB-12, (m) антитела SIRPAB-13, (n) антитела SIRPAB-17, (o) антитела SIRPAB-18, (p) антитела SIRPAB-19, (q) антитела SIRPAB-20 или (r) антитела SIRPAB-21, как показано в **Таблице 4**. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-1. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-2. В других вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-3. В определенных вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-4. В других вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-5. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-6. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-7. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-8. В определенных вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-9. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-10. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-11. В определенных вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-12. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-13. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-17. В определенных вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-18. В некоторых вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-19. В определенных вариантах осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-20. В другом варианте осуществления FR тяжелой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-21.

[00216] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или его функциональный фрагмент, представленные в настоящем документе, дополнительно включают одну, две, три и/или четыре FR легкой цепи из: (a) антитела SIRPAB-1, (b) антитела SIRPAB-2, (c) антитела SIRPAB-3, (d) антитела SIRPAB-4, (e) антитела SIRPAB-5, (f) антитела SIRPAB-6, (g) антитела SIRPAB-7, (h) антитела SIRPAB-8, (i) антитела SIRPAB-9, (j) антитела SIRPAB-10, (k) антитела SIRPAB-11, (l) антитела SIRPAB-12, (m) антитела SIRPAB-13, (n) антитела SIRPAB-17, (o) антитела SIRPAB-18, (p) антитела SIRPAB-19, (q) антитела SIRPAB-20 или (r) антитела SIRPAB-21, как показано в **Таблице 3**. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-1. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-2. В других вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-3. В определенных вариантах осуществления FR легкой

цепи антитела получены из антитела SIRPAB-4. В других вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-5. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-6. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-7. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-8. В конкретном варианте осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-9. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-10. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-11. В определенных вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-12. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-13. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-17. В определенных вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-18. В некоторых вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-19. В определенных вариантах осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-20. В другом варианте осуществления FR легкой цепи антитела получены из антитела SIRPAB-21.

[00217] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент, описанное в данном документе, содержит область VH, которая содержит: (1) FR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; (2) FR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54; (3) FR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56; и/или (4) FR4 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую все четыре из вышеуказанных VH FR1, VH FR2, VH FR3 и VH FR4.

[00218] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VH, которая включает FR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VH, которая включает FR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VH, которая включает FR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В других вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VH, которая включает FR4 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

[00219] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанное в данном документе, содержит область VL, которая содержит: (1) FR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61; (2) FR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; (3) FR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и/или (4) FR4 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

[00220] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VL, которая включает FR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61. В определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VL, которая включает FR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12. В других вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VL, которая включает FR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64. В других вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит область VL, которая включает FR4 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16.

[00221] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанное в данном документе, содержит область VH и область VL, при этом область VH содержит: (1) FR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; (2) FR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54; (3) FR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56; и/или (4) FR4 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58; и при этом область VL содержит: (1) FR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61; (2) FR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; (3) FR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и/или (4) FR4 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую все четыре из вышеуказанных FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH. В других вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую все четыре из вышеуказанных FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL. В других вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую все четыре из вышеуказанных FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH, и область VL, содержащую все четыре из вышеуказанных FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL.

[00222] Также в данном документе предложены антитела, содержащие одну или более (*например*, одну, две или три) FR VH и одну или более (*например*, одну, две или три) FR VL, перечисленных в **Таблицах 3-4**. В частности, в данном документе предложено антитело, содержащее FR1 VH (SEQ ID NO: 52) и FR1 VL (SEQ ID NO:61). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54) и FR1 VL (SEQ ID NO: 61). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте

осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR1 VL (SEQ ID NO: 61). В других вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR1 VL (SEQ ID NO: 61). В другом варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В одном варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VL (SEQ ID NO: 54) и FR1 VL (SEQ ID NO:61). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VL (SEQ ID NO: 54) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VL (SEQ ID NO: 54) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR1 VL (SEQ ID NO: 61). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VL (SEQ ID NO: 56) и FR2 VL (SEQ ID NO:12). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VL (SEQ ID NO: 56) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VL (SEQ ID

NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO:12). В других вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO:12). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В других вариантах осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO:56) и FR1 VL (SEQ ID NO:61). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO:56) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR1 VL (SEQ ID NO: 61). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO:58) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR1 VL (SEQ ID NO: 61). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO:58) и FR2 VL (SEQ ID NO:12). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID

NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO:58) и FR1 VL (SEQ ID NO:61). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO:58) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO:61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO:61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO:61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит

FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO:61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO:61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В одном варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO:61) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В других вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В одном варианте

осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO:12) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO:12) и FR3 VL (SEQ ID NO:64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO:64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR1 VL (SEQ ID NO: 61). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL

(SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3

VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH

(SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR2 VL (SEQ ID NO: 12). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В других вариантах осуществления антитело

содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO:16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR3 VH (SEQ ID NO:56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO:56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO:

12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO: 52), FR4 VH (SEQ ID NO:58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR3 VH (SEQ ID NO:56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO:56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR3 VL (SEQ ID NO: 64). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR3 VH (SEQ ID NO:56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В другом варианте осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR2 VH (SEQ ID NO: 54), FR4 VH (SEQ ID NO:58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления антитело содержит FR1 VH (SEQ ID NO:52), FR3 VH (SEQ ID NO:56), FR4 VH (SEQ ID NO: 58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В одном варианте осуществления антитело содержит FR2 VH (SEQ ID NO:54), FR3 VH (SEQ ID NO: 56), FR4 VH (SEQ ID NO:58), FR1 VL (SEQ ID NO: 61), FR2 VL (SEQ ID NO: 12), FR3 VL (SEQ ID NO: 64) и FR4 VL (SEQ ID NO: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит любую комбинацию FR VH (SEQ ID NO: 52, 54, 56, 58) и FR VL (SEQ ID NO: 61, 12, 64, 16), перечисленные в **Таблицах 3-4**.

[00223] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VH или домен VH. В других вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VL или домен VL. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат комбинацию (i) домена VH или области VH; и/или (ii) домена VL или области

VL. В еще других вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, имеют комбинацию (i) домена VH или области VH; и/или (ii) домена VL или области VL, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 18, 46, 67, 133, 138, 141, 9, 22, 27, 32, 36, 42, 50, 60, 71, 76, 80, 85, 90, 123 и 127, как указано в **Таблицах 9-10**. В еще других вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, имеют комбинацию (i) домена VH или области VH; и/или (ii) домена VL или области VL любого из антител SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10, SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-13, SIRPAB-17, SIRPAB-18, SIRPAB-19, SIRPAB-20 или SIRPAB-21, как указано в **Таблицах 9-10**.

[00224] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VH, содержащую: (1) CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 78 и 82; (2) CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 69 и 83; и (3) CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и область VL, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOS: 18, 46, 67, 133, 138 и 141, как указано в **Таблице 9**. В некоторых вариантах осуществления область VL имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18. В других вариантах осуществления область VL имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления область VL имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67.

[00225] В других вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, содержат область VH, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 22, 27, 32, 36, 42, 50, 60, 71, 76, 80, 85, 90, 123 и 127, как указано в **Таблице 10**; и область VL, содержащую: (1) CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; (2) CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; и (3) CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:32. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:50. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:60. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:80. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:123. В некоторых вариантах осуществления область VH имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:127.

Таблица 9. Аминокислотные последовательности домена VL

Антитело	**VL (SEQ ID NO:)**
SIRPAB-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:18)
SIRPAB-2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:18)
SIRPAB-3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:18)
SIRPAB-4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:18)
SIRPAB-5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:18)
SIRPAB-6	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPYTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:46)
SIRPAB-7	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPYTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:46)
SIRPAB-8	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGGGT KVEIK (SEQ ID NO:67)
SIRPAB-9	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGGGT KVEIK (SEQ ID NO:67)

Антитело	VL (SEQ ID NO:)
SIRPAB-10	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGGGT KVEIK (SEQ ID NO:67)
SIRPAB-11	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGGGT KVEIK (SEQ ID NO:67)
SIRPAB-12	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGGGT KVEIK (SEQ ID NO:67)
SIRPAB-13	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGGGT KVEIK (SEQ ID NO:67)
SIRPAB-17	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:18)
SIRPAB-18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:18)
SIRPAB-19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASDDISDYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNIEDGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:133)
SIRPAB-20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISDYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ADNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:138)
SIRPAB-21	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASDDISDYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:141)

Таблица 10. Аминокислотные последовательности домена VH

Антитело	VH (SEQ ID NO:)
SIRPAB-1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GYHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:9)
SIRPAB-2	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGDYWAWIRQHPGKGLEWI

Антитело	**VH (SEQ ID NO:)**
	GYIYPSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GYHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:22)
SIRPAB-3	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGWYWQWIRQHPGKGLEW IGTIYYSGSTFYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GYHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:27)
SIRPAB-4	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGSPYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYASGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GYHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:32)
SIRPAB-5	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGPAYWSWIRQHPGKGLEWI GTIYYSGSTFYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GYHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:36)
SIRPAB-6	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GLDGSYGSSAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:42)
SIRPAB-7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGEYYWEWIRQHPGKGLEWI GYIYSSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GLDGSYGSSAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:50)
SIRPAB-8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWM GWISPYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC AREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:60)
SIRPAB-9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGGYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:71)
SIRPAB-10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYPISWVRQAPGQGLEWM GWIYAYGGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC AREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:76)
SIRPAB-11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:80)
SIRPAB-12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYGIVWVRQAPGQGLEW MGWISAYAGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:85)
SIRPAB-	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFHGYGISWVRQAPGQGLEW

Антитело	VH (SEQ ID NO:)
13	MGWISAYSGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:90)
SIRPAB-17	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE GYHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:123)
SIRPAB-18	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSKEG YHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:127)
SIRPAB-19	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSKEG YHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:127)
SIRPAB-20	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSKEG YHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:127)
SIRPAB-21	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSKEG YHSGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:127)

[00226] Также в настоящем документе предложены изолированные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие иммуноглобулиновую тяжелую цепь, легкую цепь, область VH, область VL, CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL и/или CDR3 VL антитела к SIRPα, которые связывают полипептид SIRPα, фрагмент полипептида SIRPα, пептид SIRPα или эпитоп SIRPα. Примерные последовательности нуклеиновых кислот для области VL и области VH любого из антител SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10, SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-13, SIRPAB-18, SIRPAB-19, SIRPAB-20 или SIRPAB-21, показаны в **Таблицах 11-12**.

Таблица 11. Нуклеотидные последовательности VL

Антитело	Нуклеотидные последовательности
SIRPAB-1	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA

	CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:17)
SIRPAB-2	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:23)
SIRPAB-3	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:28)
SIRPAB-4	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:33)
SIRPAB-5	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:37)
SIRPAB-6	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG

	AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:45)
SIRPAB-7	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:51)
SIRPAB-8	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGC TGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAGCAGGGAGCCAG TTTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:66)
SIRPAB-9	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGC TGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAGCAGGGAGCCAG TTTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:72)
SIRPAB-10	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGC TGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC

	AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAGCAGGGAGCCAG TTTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:77)
SIRPAB-11	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGC TGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAGCAGGGAGCCAG TTTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:81)
SIRPAB-12	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGC TGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAGCAGGGAGCCAG TTTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:86)
SIRPAB-13	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGC TGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAGCAGGGAGCCAG TTTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:91)
SIRPAB-17	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ

	ID NO:124)
SIRPAB-18	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:128)
SIRPAB-19	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTGACGACATTAGCGAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGATGCATCCAATATCGAAGACGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:132)
SIRPAB-20	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTTCCGAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGACGCAGACAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:137)
SIRPAB-21	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTGACGACATTAGCGAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTACGACGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGTTCGCCTA CCTCCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (SEQ ID NO:140)

Таблица 12. Нуклеотидные последовательности VH

Антитело	**Нуклеотидные последовательности**
SIRPAB-1	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGTCAATCTATTACAGTGGGAGCACCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCTCA ((SEQ ID NO:8)
SIRPAB-2	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTGATTACTGGGCTTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTG GAGTGGATTGGGTACATCTATCCTAGTGGGTTTACCTACTACAACCC GTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACC AGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGAGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:21)
SIRPAB-3	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTTGGTACTGGCAGTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGACGATCTATTACAGTGGGAGCACCTTTTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:26)
SIRPAB-4	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTAGTCCGTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGTACATCTATGCTAGTGGGTTTACCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:31)
SIRPAB-5	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC

	AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTCCGGCTTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGACTATCTATTACAGTGGGAGCACCTTTTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:35)
SIRPAB-6	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGGGCTTGGACGGATCCTACGGTTCAAGCG CATGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:41)
SIRPAB-7	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGAGTACTACTGGGAGTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGTACATCTATTCTAGTGGGTTTACCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGGGCTTGGACGGATCCTACGGTTCAAGCG CATGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:49)
SIRPAB-8	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGG CCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCT ATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAG AAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGAAGCAGCTGGTACGACTTCGAC CTATGGGGGAGAGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:59)
SIRPAB-9	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGG CCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTGGGGGT TATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCAGCGCTTACGGGGGTGAGACAAACTATGCACAG

	AAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGAAGCAGCTGGTACGACTTCGAC CTATGGGGGAGAGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:70)
SIRPAB-10	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGG CCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGGTT ATCCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG ATGGGATGGATCTATGCTTACGGGGGTAACACAAACTATGCACAGA AGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCAC AGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGAAGCAGCTGGTACGACTTCGACCT ATGGGGGAGAGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:75)
SIRPAB-11	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGG CCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTAGGGGG TATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCAGCGCTTACGGGGGTGAGACAAACTATGCACAG AAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGAAGCAGCTGGTACGACTTCGAC CTATGGGGGAGAGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:79)
SIRPAB-12	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGG CCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGGG TATGGTATCGTTTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCAGCGCTTACGCTGGTGAGACAAACTATGCACAG AAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGAAGCAGCTGGTACGACTTCGAC CTATGGGGGAGAGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:84)
SIRPAB-13	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGG CCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTCATGGGT ATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCAGCGCTTACTCGGGTGAGACAAACTATGCACAG AAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGAAGCAGCTGGTACGACTTCGAC

	CTATGGGGGAGAGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:89)
SIRPAB-17	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGGCTATCTATTACAGTGGGCCGATCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:122)
SIRPAB-18	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGGCTATCTATTACAGTGGGCCGATCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCAGTAAGGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGGCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:126)
SIRPAB-19	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGGCTATCTATTACAGTGGGCCGATCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCAGTAAGGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGGCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:129)
SIRPAB-20	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG GTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGGCTATCTATTACAGTGGGCCGATCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCAGTAAGGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGGCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:134)
SIRPAB-21	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTG

	GTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGATTGGGGCTATCTATTACAGTGGGCCGATCTACTACAACC CGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGT GTACTACTGCAGTAAGGAGGGATACCACTCAGGAATGGACGTATGG GGGCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:139)

[00227] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:9 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00228] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-2. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:22 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00229] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-3. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:27 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00230] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:32 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00231] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-5. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:36 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00232] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ NO: 42 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:50 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:60 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:71 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:76 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:80 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело

содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:85 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:90 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:123 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:127 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00233] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-6. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:42 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46.

[00234] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-7. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:50 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46.

[00235] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ NO: 9 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:22 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:27 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:32 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:36 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:60 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:71 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:76 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:80 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:85 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:90 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:123 и аминокислотную

последовательность VL SEQ ID NO:46. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:127 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:46.

[00236] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-8. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:60 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67.

[00237] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-9. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:71 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67.

[00238] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-10. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:76 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67.

[00239] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-11. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:80 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67.

[00240] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-12. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:85 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67.

[00241] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-13. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:90 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67.

[00242] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ NO: 9 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:22 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:27 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:32 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело

содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:36 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:42 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:50 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:123 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:127 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:67.

[00243] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-17. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:123 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00244] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-18. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:127 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:18.

[00245] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-19. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:127 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133.

[00246] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO: 9 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:22 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:27 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:32 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:36 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:42 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:50 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело

содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:60 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:71 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:76 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:80 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:85 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:90 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:123 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:133.

[00247] В других вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-20. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:127 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138.

[00248] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ NO: 9 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:22 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:27 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:32 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:36 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:42 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:50 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:60 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:71 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:76 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело

содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:80 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:85 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:90 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:123 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:138.

[00249] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет аминокислотную последовательность VH и VL SIRPAB-21. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:127 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141.

[00250] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ NO: 9 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:22 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:27 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:32 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:36 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:42 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:50 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:60 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:71 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:76 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:80 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:85 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:90 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления антитело

содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO:123 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO:141.

[00251] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, которые специфически связываются с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем легкая цепь содержит константную область, имеющую аминокислотную последовательность:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:211).

[00252] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, при этом тяжелая цепь содержит Fc-область IgG1 человека, имеющую аминокислотную последовательность: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**K**VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:155, K322 подчеркнуто).

[00253] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, которые специфически связываются с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь не содержит Fc-область IgG1 человека, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155.

[00254] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, которые специфически связываются с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит Fc-область с K322A IgG1 человека, имеющую аминокислотную последовательность: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**A**VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:157, замена K322A подчеркнута).

[00255] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанное в данном документе, которое специфически

связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, при этом тяжелая цепь содержит Fc-область IgG4 человека, имеющую аминокислотную последовательность: ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**S**CPAPEF**L**GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:156, S228 и L235 подчеркнуты).

[00256] В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, при этом тяжелая цепь содержит Fc-область IgG4P человека, имеющую аминокислотную последовательность: ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:158, замены S228P подчеркнуты).

[00257] В еще другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, которые специфически связываются с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит Fc-область IgG4PE человека, имеющую аминокислотную последовательность: ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEF**E**GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:159, замены S228P и L235E подчеркнуты).

[00258] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, которые специфически связываются с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь не содержит Fc-область IgG4PE человека, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:159.

[00259] В еще другом варианте осуществления антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, которые специфически связываются с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем легкая цепь содержит константную область, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:211; а тяжелая цепь содержит Fc-область, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 144 и 155-159.

[00260] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем легкая цепь содержит следующую аминокислотную последовательность:

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:143, LC_SIRPAB-11).

[00261] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLEWMGWISA YGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREAGSSWYDFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**K**VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:142, HC_SIRPAB-11, K322 подчеркнут).

[00262] В других вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе о, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLEWMGWISA YGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREAGSSWYDFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**A**VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:119,

HC_SIRPAB-11-IgG1-K322A, замена K322A подчеркнута).

[00263] В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLEWMGWISA YGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREAGSSWYDFDLWG RGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGK* (SEQ ID NO:112, HC_ SIRPAB-11-IgG4P, Fc-остов IgG4P выделен курсивом и подчеркнут).

[00264] В еще одном осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLEWMGWISA YGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREAGSSWYDFDLWG RGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGK* (SEQ ID NO:120, HC_ SIRPAB-11-IgG4PE, Fc-остов IgG4PE выделен курсивом и подчеркнут).

[00265] В еще одном осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем тяжелая цепь содержит следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLEWMGWISA YGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREAGSSWYDFDLWG RGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:98, HC_ SIRPAB-11-IgG1-AAS, Fc-остов с AAS IgG1 выделен курсивом и подчеркнут).

[00266] В одном конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

[00267] В другом конкретном осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:119.

[00268] В других вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98.

[00269] В других вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:120.

[00270] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:112.

[00271] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:204.

[00272] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:205.

[00273] В еще одном конкретном осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.

[00274] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:213.

[00275] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:214.

[00276] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:215.

[00277] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:216.

[00278] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:202; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:217.

[00279] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:202; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:218.

[00280] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

[00281] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:220.

[00282] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:221.

[00283] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:222.

[00284] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:223.

[00285] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:207.

[00286] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:208; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:117.

[00287] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:209; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:110.

[00288] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148.

[00289] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:106.

[00290] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:118.

[00291] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (например, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:111.

[00292] Примерные последовательности легкой цепи и тяжелой цепи кратко описаны в следующей **Таблице 13**:

Таблица 13: последовательности легкой цепи и тяжелой цепи

Тип цепи	**Аминокислотные последовательности**
Легкая цепь (SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-17, SIRPAB-18)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLATGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPW TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:200)
Легкая цепь (SIRPAB-6, SIRPAB-7)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPYT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:202)
Легкая цепь (SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10, SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-13)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLI YAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGASFPIT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:143)
Легкая цепь (SIRPAB-19)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASDDISDYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNIEDGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPWT

	FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:208)
Легкая цепь (SIRPAB-20)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISDYLNWYQQKPGKAPKLLI YDADNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPW TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:209)
Легкая цепь (SIRPAB-21)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASDDISDYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFAYLPW TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:210)
Тяжелая цепь (SIRPAB-11)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLE WMGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:142)
Тяжелая цепь (SIRPAB-11-K322A)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLE WMGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCA VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:119)
Тяжелая цепь (SIRPAB-12)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYGIVWVRQAPGQGL EWMGWISAYAGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD

	TAVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:204)
Тяжелая цепь (SIRPAB-12-K322A)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYGIVWVRQAPGQGL EWMGWISAYAGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCA VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:205)
Тяжелая цепь (SIRPAB-11-AAS)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLE WMGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:98)
Тяжелая цепь (SIRPAB-11-4PE)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLE WMGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN

	KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:120)
Тяжелая цепь (SIRPAB-11-4P)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRGYGISWVRQAPGQGLE WMGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:112)
Тяжелая цепь (SIRPAB-1)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCAREGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:212)
Тяжелая цепь (SIRPAB-2)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGDYWAWIRQHPGKGL EWIGYIYPSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCAREGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:213)
Тяжелая цепь (SIRPAB-3)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGWYWQWIRQHPGKGL EWIGTIYYSGSTFYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY

	YCAREGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:214)
Тяжелая цепь (SIRPAB-4)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGSPYWSWIRQHPGKGLE WIGYIYASGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CAREGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:215)
Тяжелая цепь (SIRPAB-5)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGPAYWSWIRQHPGKGL EWIGTIYYSGSTFYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCAREGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:216)
Тяжелая цепь (SIRPAB-6)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCAREGLDGSYGSSAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN

	KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:217)
Тяжелая цепь (SIRPAB-7)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGEYYWEWIRQHPGKGL EWIGYIYSSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCAREGLDGSYGSSAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:218)
Тяжелая цепь (SIRPAB-8)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLE WMGWISPYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:219)
Тяжелая цепь (SIRPAB-9)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGGYGISWVRQAPGQGLE WMGWISAYGGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:220)
Тяжелая цепь (SIRPAB-10)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYPISWVRQAPGQGLE WMGWIYAYGGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT

	AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:221)
Тяжелая цепь (SIRPAB-13)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFHGYGISWVRQAPGQGLE WMGWISAYSGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDT AVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:222)
Тяжелая цепь (SIRPAB-17)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCAREGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:223)
Тяжелая цепь (SIRPAB-18)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCSKEGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA

	LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:207)
Тяжелая цепь (SIRPAB-19)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCSKEGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:117)
Тяжелая цепь (SIRPAB-20)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCSKEGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:110)
Тяжелая цепь (SIRPAB-21)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGAIYYSGPIYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCSKEGYHSGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:148)
Тяжелая цепь (SIRPAB-12-	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYGIVWVRQAPGQGL EWMGWISAYAGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD

AAS)	TAVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:106)
Тяжелая цепь (SIRPAB-12-4PE)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYGIVWVRQAPGQGL EWMGWISAYAGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:118)
Тяжелая цепь (SIRPAB-12-4P)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYGIVWVRQAPGQGL EWMGWISAYAGETNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAREAGSSWYDFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:111)

[00293] В некоторых вариантах осуществления, представленное в данном документе антитело содержит любую из легких цепей, представленных в данном документе, и любую из тяжелых цепей, представленных в данном документе, в любой комбинации или перестановке. В определенных вариантах осуществления антитело, представленное в данном документе, включает в себя пары легкой цепи и тяжелой цепи, как указано в следующей **Таблице 14**:

Таблица 14: примерные пары легкой цепи и тяжелой цепи для антитела к SIRPα

Антитело	Легкая цепь	Тяжелая цепь
SIRPAB-1	SEQ ID NO:200	SEQ ID NO:212
SIRPAB-2	SEQ ID NO:200	SEQ ID NO:213
SIRPAB-3	SEQ ID NO:200	SEQ ID NO:214
SIRPAB-4	SEQ ID NO:200	SEQ ID NO:215
SIRPAB-5	SEQ ID NO:200	SEQ ID NO:216
SIRPAB-6	SEQ ID NO:202	SEQ ID NO:217
SIRPAB-7	SEQ ID NO:202	SEQ ID NO:218
SIRPAB-8	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:219
SIRPAB-9	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:220
SIRPAB-10	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:221
SIRPAB-11	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:142
SIRPAB-12	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:204
SIRPAB-13	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:222
SIRPAB-17	SEQ ID NO:200	SEQ ID NO:223
SIRPAB-18	SEQ ID NO:200	SEQ ID NO:207
SIRPAB-19	SEQ ID NO:208	SEQ ID NO:117
SIRPAB-20	SEQ ID NO:209	SEQ ID NO:110
SIRPAB-21	SEQ ID NO:210	SEQ ID NO:148
SIRPAB-11-K322A	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:119
SIRPAB-11-AAS	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:98
SIRPAB-11-4PE	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:120
SIRPAB-11-4P	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:112
SIRPAB-12-K322A	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:205
SIRPAB-12-AAS	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:106
SIRPAB-12-4PE	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:118
SIRPAB-12-4P	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:111

[00294] В еще одном конкретном осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом SIRPα (*например*, ВКД SIRPα, например, SIRPα человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, причем (i) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; а (ii) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:213.

[00295] В еще одном аспекте предложены антитела, которые конкурируют с одним из типовых антител или функциональных фрагментов за связывания с SIRPα. Такие антитела также могут связываться с тем же эпитопом, что и одно из приведенных в

данном документе типовых антител, или с перекрывающимся эпитопом. Ожидается, что антитела и фрагменты, которые конкурируют с типовыми антителами или связываются с тем же эпитопом, что и они, будут демонстрироваться сходные функциональные свойства. Типовые антигенсвязывающие белки и фрагменты включают имеющие области VH и VL, а также CDR, предложенные в данном документе, включая приведенные в **Таблицах 1-4 и 9-10**. Таким образом, в качестве конкретного примера предложенные антитела включают те, которые конкурируют с антителом, содержащим: (a) 1, 2, 3, 4, 5 или все 6 CDR, перечисленные в Таблицах 1-2; (b) VH и VL, выбранные из областей VH и VL, приведенных для антител, перечисленных в Таблицах 9-10; или (c) две легкие цепи и две тяжелые цепи, содержащие VH и VL, определенные для антител, перечисленных в Таблицах 9-10. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-3. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-5. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-6. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-7. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-8. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-9. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-10. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-11. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-12. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-13. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-17. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-18. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-19. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-20. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой SIRPAB-21.

[00296] В другом аспекте, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, предложенные в данном документе, связываются с областью, включая эпитоп, SIRPα человека или SIRPα макака. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, связывается с областью SIRPα человека (SEQ ID NO: 146), содержащей аминокислотные остатки от 30 до 98 SIRPα человека. В еще одном аспекте антитела, предложенное в данном документе, связывают с конкретным эпитопом SIRPα человека.

[00297] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-36 (SEQ ID NO: 147) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей

мере с одним из остатков 30-52 (SEQ ID NO:160) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-67 (SEQ ID NO:161) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-69 (SEQ ID NO:162) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-74 (SEQ ID NO:163) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-93 (SEQ ID NO:164) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-95 (SEQ ID NO:165) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-96 (SEQ ID NO:166) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-98 (SEQ ID NO:167) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[00298] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 36-52 (SEQ ID NO: 168) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 36-67 (SEQ ID NO:169) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 36-69 (SEQ ID NO:170) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 36-74 (SEQ ID NO:171) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 36-93 (SEQ ID NO:172) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей

мере с одним из остатков 36-95 (SEQ ID NO:173) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 36-96 (SEQ ID NO:174) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 36-98 (SEQ ID NO:175) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[00299] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 52-67 (SEQ ID NO: 176) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 52-69 (SEQ ID NO:177) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 52-74 (SEQ ID NO:178) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 52-93 (SEQ ID NO:179) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 52-95 (SEQ ID NO:180) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 52-96 (SEQ ID NO:181) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 52-98 (SEQ ID NO:182) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[00300] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-69 (имеющих аминокислотную последовательность TKR) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-74 (SEQ ID NO:183) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-93 (SEQ ID NO:184) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах

осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-95 (SEQ ID NO:185) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-96 (SEQ ID NO:186) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-98 (SEQ ID NO:187) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[00301] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 69-74 (SEQ ID NO: 188) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 69-93 (SEQ ID NO:189) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 69-95 (SEQ ID NO:190) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 69-96 (SEQ ID NO:191) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 69-98 (SEQ ID NO:192) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[00302] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 74-93 (SEQ ID NO: 193) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 74-95 (SEQ ID NO:194) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 74-96 (SEQ ID NO:195) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 74-98 (SEQ ID NO:196) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[00303] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с

одним из остатков 93-95 (имеющих аминокислотную последовательность KFR) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 93-96 (SEQ ID NO:198) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 93-98 (SEQ ID NO:199) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 95-96 (имеющих аминокислотную последовательность RK) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 95-98 (SEQ ID NO:201) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связывается по меньшей мере с одним из остатков 96-98 (имеющих аминокислотную последовательность KGS) в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

[00304] В конкретном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются по меньшей мере с одним из остатков, выбранных из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются по меньшей мере с одним из остатков, выбранных из группы, состоящей из T67, R69, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00305] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с двумя или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с двумя или более остатками, выбранными из группы, состоящей из T67, R69, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00306] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с тремя или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с тремя или более остатками, выбранными из группы, состоящей из T67,

R69, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00307] В конкретных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с четырьмя или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с четырьмя или более остатками, выбранными из группы, состоящей из T67, R69, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00308] В одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с пятью или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с пятью остатками, состоящими из T67, R69, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00309] В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с шестью или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00310] В еще одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с семью или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00311] В еще одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с восемью или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00312] В конкретных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с девятью или более остатками, выбранными из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00313] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются со всеми десятью остатками из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98, в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146.

[00314] В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с L30 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с I36 в пределах

аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В конкретном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с Q52 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В одном конкретном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с T67 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с R69 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с F74 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В другом варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с K93 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В еще одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с R95 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В еще одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с K96 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при связывании с SIRPα, связываются с S98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO:146. Также предусмотрена любая комбинация из двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти вышеперечисленных аминокислот сайтов связывания SIRPα.

[00315] В одном аспекте, в данном документе предложены антитела, которые специфически связываются с SIRPα и могут уменьшить связывание между SIRPα и CD47. Как известно специалисту в данной области техники, существует много встречающихся в природе полиморфизмов SIRPα. Антитела к SIRPα или его фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восемью, девятью, десятью или более, или всеми полиморфными формами SIRPα, известными специалисту в данной области техники, например одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восемью, девятью, десятью или более, или всеми полиморфными формами SIRPα, описанными в Takenaka K, et al., Nat Immunol. 2007 Dec;8(12):1313-23. В некоторых конкретных вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с одним или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и одной или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2,

содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00316] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с двумя или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и двумя или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00317] В конкретных вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с тремя или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и тремя или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00318] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с четырьмя или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и четырьмя или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00319] В конкретных вариантах осуществления антитела к SIRPα или их

фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с пятью или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и пятью или более полиморфными формами SIRPα, выбранными из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00320] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться со всеми шестью полиморфными формами SIRPα, состоящими из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и всеми шестью полиморфными формами SIRPα, состоящими из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00321] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или его фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или его фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или его фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или его фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или его фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и SIRPα v5, содержащим SEQ ID

NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или его фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00322] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v1 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v2. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v1 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v3. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v1 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v4. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v1 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v1 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v6.

[00323] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v2 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v3. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v2 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v4. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v2 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты,

предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v2 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v6.

[00324] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v3 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v4. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v3 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v3 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v6.

[00325] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v4 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v4 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание между CD47 и указанным SIRPα v5 и связывание между CD47 и указанным SIRPα v6.

[00326] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2 и SIRPα v3. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, и SIRPα v4,

содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2 и SIRPα v4. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2 и SIRPα v6.

[00327] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v3 и SIRPα v4. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v3 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v3 и SIRPα v6.

[00328] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v4 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v4 и SIRPα v6.

[00329] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать

связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00330] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v3 и SIRPα v4. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v3 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v3 и SIRPα v6.

[00331] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00332] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3 и SIRPα v4. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID

NO:151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3 и SIRPα v6.

[00333] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v4 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v4 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00334] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в

домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v3, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00335] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00336] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00337] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00338] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в

домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v5. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v5 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47 с каждым и всеми указанными SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00339] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα v1, содержащим SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащим SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащим SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащим SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащим SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащим SEQ ID NO: 154 в домене IgV, и/или уменьшать связывание CD47

с каждым и всеми указанными SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6.

[00340] В конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, вставляются в большой карман SIRPα, образованный преимущественно остатками Phe74, Ile36, Leu30, Lys93 и Asn52 SIRPα, имеющим SEQ ID NO: 146, который является тем же карманом, который распознается и взаимодействует с петлей F-G CD47. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 50% или по меньшей мере с 50% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 55% или по меньшей мере с 55% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 60% или по меньшей мере с 60% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 65% или по меньшей мере с 65% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 70% или по меньшей мере с 70% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 75% или по меньшей мере с 75% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 80% или по меньшей мере с 80% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 85% или по меньшей мере с 85% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 90% или по меньшей мере с 90% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 95% или по меньшей мере с 95% полиморфных форм SIRPα на CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα. В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его фрагмент, предложенные в данном документе, связываются примерно с 99% или по меньшей мере с 99% полиморфных форм SIRPα в CD47-связывающей поверхности в домене Ig-V SIRPα.

[00341] Как описано в предыдущих абзацах, антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, могут связываться с SIRPα и/или уменьшать связывание CD47 с SIRPα (например, любого одно или любой комбинации двух, трех, четырех, пяти или шести SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6), уменьшение связывания CD47-SIRPα может составлять примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90%, примерно 95%, примерно 99% или примерно 99,99%. Точно так же уменьшение связывания CD47-SIRPα (*например* связывания CD47 с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) антителами к SIRPα или их фрагментами, предложенными в настоящем документе, может составлять 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%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,99%. Кроме того, уменьшение связывания CD47-SIRPα (*например* связывания CD47 с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) антителами к SIRPα или их фрагментами может варьироваться от примерно 50% до примерно 90%, от примерно 60% до примерно 90%, от примерно 70% до примерно 90%, от примерно 80% до примерно 90%, от примерно 50% до примерно 99%, от примерно 60% до примерно 99% от примерно 70% до примерно 99%, от примерно 80% до примерно 99% или от примерно 90% до примерно 99%.

[00342] В другом аспекте предложенное в данном документе антитело к SIRPα или его фрагмент, которое специфически связывается с SIRPα, может модулировать активность SIRPα (*например*, ингибировать передачу сигнала SIRPα). В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его функциональный фрагмент, предложенный в настоящем документе, представляет собой антитело, описанное в настоящем документе, которое специфически связывается с ВКД SIRPα человека и активирует (*например*, частично активирует) по меньшей мере одну активность SIRPα (*например*, увеличивает продукцию и/или секрецию определенных цитокинов).

[00343] В некоторых конкретных вариантах осуществления антитела к SIRPα или их функциональные фрагменты, предложенные в настоящем документе, связываются с SIRPα (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) со значением $К_Д$ от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ, от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ, от примерно 1 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 100 пМ до примерно 10 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 100 нМ или от примерно 10 нМ примерно до 1000 нМ и/или уменьшают связывание CD47 с SIRPα (например, любым

одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4 , v5 и v6) с EC_{50} от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ, от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ, от примерно 1 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 100 пМ до примерно 10 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 100 нМ или от примерно 10 нМ до примерно 1000 нМ.

[00344] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα, предложенное в настоящем документе, связывается с SIRPα со значением $К_Д$ примерно 0,01 нМ, примерно 0,02 нМ, примерно 0,03 нМ, примерно 0,04 нМ, примерно 0,05 нМ, примерно 0,06 нМ, примерно 0,07 нМ, примерно 0,08 нМ. , примерно 0,09 нМ, примерно 0,1 нМ, примерно 0,11 нМ, примерно 0,12 нМ, примерно 0,13 нМ, примерно 0,14 нМ, примерно 0,15 нМ, примерно 0,16 нМ, примерно 0,17 нМ, примерно 0,18 нМ, примерно 0,19 нМ, примерно 0,2 нМ, примерно 0,3 нМ, примерно 0,4 нМ, примерно 0,5 нМ, примерно 0,6 нМ, примерно 0,7 нМ, примерно 0,8 нМ, примерно 0,9 нМ, примерно 1,0 нМ, примерно 1,2 нМ, примерно 1,3 нМ, примерно 1,4 нМ, примерно 1,5 нМ, примерно 1,6 нМ , примерно 1,7 нМ, примерно 1,8 нМ, примерно 1,9 нМ, 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ, примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, или примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ, примерно 6,0 нМ, примерно 6,1 нМ, примерно 6,2 нМ, примерно 6,3 нМ, примерно 6,4 нМ, примерно 6,5 нМ, примерно 6,6 нМ, примерно 6,7 нМ, примерно 6,8 нМ, примерно 6,9 нМ, примерно 7,0 нМ, примерно 7,1 нМ, примерно 7,2 нМ, примерно 7,3 нМ, примерно 7,4 нМ, примерно 7,5 нМ, примерно 7,6 нМ, примерно 7,7 нМ, примерно 7,8 нМ, примерно 7,9 нМ, примерно 8,0 нМ, примерно 8,1 нМ, примерно 8,2 нМ, примерно 8,3 нМ, примерно 8,4 нМ, примерно 8,5 нМ, примерно 8,6 нМ, примерно 8,7 нМ, примерно 8,8 нМ, примерно 8,9 нМ, примерно 9,0 нМ, примерно 9,1 нМ, примерно 9,2 нМ, примерно 9,3 нМ, примерно 9,4 нМ, примерно 9,5 нМ, примерно 9,6 нМ, примерно 9,7 нМ, примерно 9,8 нМ, примерно 9,9 нМ или примерно 10,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα, предложенное в настоящем документе, связывается с SIRPα со значением $К_Д$ не более 0,01 нМ, не более 0,02 нМ, не более 0,03 нМ, не более 0,04 нМ, не более 0,05 нМ, не более 0,06 нМ, не более 0,07 нМ, не более 0,08 нМ, не более 0,09 нМ, не более 0,1 нМ, не более 0,11 нМ, не более 0,12 нМ, не более 0,13 нМ, не более 0,14 нМ, не более 0,15 нМ, не более 0,16 нМ, не более 0,17 нМ, не более 0,18 нМ, не более 0,19 нМ, не более 0,2 нМ, не более 0,3 нМ, не более 0,4 нМ, не более 0,5 нМ, не более 0,6

нМ, не более 0,7 нМ, не более 0,8 нМ, не более 0,9 нМ, не более 1,0 нМ, не более 1,2 нМ, не более 1,3 нМ, не более 1,4 нМ, не более 1,5 нМ, не более 1,6 нМ, не более 1,7 нМ, не более 1,8 нМ, не более 1,9 нМ, 2 нМ, не более 2,1 нМ, не более 2,2 нМ, не более 2,3 нМ, не более 2,4 нМ, не более 2,5 нМ, не более 2,6 нМ, не более 2,7 нМ, не более 2,8 нМ, не более 2,9 нМ, не более 3 нМ, не более 3,1 нМ, не более 3,2 нМ, не более 3,3 нМ, не более 3,4 нМ, не более 3,5 нМ, не более 3,6 нМ, не более 3,7 нМ, не более 3,8 нМ, не более 3,9 нМ, не более 4,0 нМ, не более 4,1 нМ, не более 4,2 нМ, не более 4,3 нМ, не более 4,4 нМ, не более 4,5 нМ, не более 4,6 нМ, не более 4,7 нМ, не более 4,8 нМ, не более 4,9 нМ, не более 5,0 нМ, не более 5,1 нМ, не более 5,2 нМ, не более 5,3 нМ, не более 5,4 нМ, не более 5,5 нМ, не более 5,6 нМ, не более 5,7 нМ, не более 5,8 нМ, не более 5,9 нМ, не более 6,0 нМ, не более 6,1 нМ, не более 6,2 нМ, не более 6,3 нМ, не более 6,4 нМ, не более 6,5 нМ, не более 6,6 нМ, не более 6,7 нМ, не более 6,8 нМ, не более 6,9 нМ, не более 7,0 нМ, не более 7,1 нМ, не более 7,2 нМ, не более 7,3 нМ, не более 7,4 нМ, не более 7,5 нМ, не более 7,6 нМ, не более 7,7 нМ, не более 7,8 нМ, не более 7,9 нМ, не более 8,0 нМ, не более 8,1 нМ, не более 8,2 нМ, не более 8,3 нМ, не более 8,4 нМ, не более 8,5 нМ, не более 8,6 нМ, не более 8,7 нМ, не более 8,8 нМ, не более 8,9 нМ, не более 9,0 нМ, не более 9,1 нМ, не более 9,2 нМ, не более 9,3 нМ, не более 9,4 нМ, не более 9,5 нМ, не более 9,6 нМ, не более 9,7 нМ, не более 9,8 нМ, не более 9,9 нМ или не более 10,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его функциональный фрагмент представляет собой антитело к SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент антитела к SIRPα. В некоторых вариантах осуществления SIRPα выбран из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα яванского макака.

[00345] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα, предложенное в настоящем документе, уменьшает связывание CD47 с SIRPα с EC_{50} примерно 0,01 нМ, примерно 0,02 нМ, примерно 0,03 нМ, примерно 0,04 нМ, примерно 0,05 нМ, примерно 0,06 нМ, примерно 0,07 нМ, примерно 0,08 нМ. , примерно 0,09 нМ, примерно 0,1 нМ, примерно 0,11 нМ, примерно 0,12 нМ, примерно 0,13 нМ, примерно 0,14 нМ, примерно 0,15 нМ, примерно 0,16 нМ, примерно 0,17 нМ, примерно 0,18 нМ, примерно 0,19 нМ, примерно 0,2 нМ, примерно 0,3 нМ, примерно 0,4 нМ, примерно 0,5 нМ, примерно 0,6 нМ, примерно 0,7 нМ, примерно 0,8 нМ, примерно 0,9 нМ, примерно 1,0 нМ, примерно

1,2 нМ, примерно 1,3 нМ, примерно 1,4 нМ, примерно 1,5 нМ, примерно 1,6 нМ , примерно 1,7 нМ, примерно 1,8 нМ, примерно 1,9 нМ, 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ, примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, или примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ, примерно 6,0 нМ, примерно 6,1 нМ, примерно 6,2 нМ, примерно 6,3 нМ, примерно 6,4 нМ, примерно 6,5 нМ, примерно 6,6 нМ, примерно 6,7 нМ, примерно 6,8 нМ, примерно 6,9 нМ, примерно 7,0 нМ, примерно 7,1 нМ, примерно 7,2 нМ, примерно 7,3 нМ, примерно 7,4 нМ, примерно 7,5 нМ, примерно 7,6 нМ, примерно 7,7 нМ, примерно 7,8 нМ, примерно 7,9 нМ, примерно 8,0 нМ, примерно 8,1 нМ, примерно 8,2 нМ, примерно 8,3 нМ, примерно 8,4 нМ, примерно 8,5 нМ, примерно 8,6 нМ, примерно 8,7 нМ, примерно 8,8 нМ, примерно 8,9 нМ, примерно 9,0 нМ, примерно 9,1 нМ, примерно 9,2 нМ, примерно 9,3 нМ, примерно 9,4 нМ, примерно 9,5 нМ, примерно 9,6 нМ, примерно 9,7 нМ, примерно 9,8 нМ, примерно 9,9 нМ или примерно 10,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα, предложенное в настоящем документе, уменьшает связывание CD47 с SIRPα с EC_{50} не более 0,01 нМ, не более 0,02 нМ, не более 0,03 нМ, не более 0,04 нМ, не более 0,05 нМ, не более 0,06 нМ, не более 0,07 нМ, не более 0,08 нМ, не более 0,09 нМ, не более 0,1 нМ, не более 0,11 нМ, не более 0,12 нМ, не более 0,13 нМ, не более 0,14 нМ, не более 0,15 нМ, не более 0,16 нМ, не более 0,17 нМ, не более 0,18 нМ, не более 0,19 нМ, не более 0,2 нМ, не более 0,3 нМ, не более 0,4 нМ, не более 0,5 нМ, не более 0,6 нМ, не более 0,7 нМ, не более 0,8 нМ, не более 0,9 нМ, не более 1,0 нМ, не более 1,2 нМ, не более 1,3 нМ, не более 1,4 нМ, не более 1,5 нМ, не более 1,6 нМ, не более 1,7 нМ, не более 1,8 нМ, не более 1,9 нМ, 2 нМ, не более 2,1 нМ, не более 2,2 нМ, не более 2,3 нМ, не более 2,4 нМ, не более 2,5 нМ, не более 2,6 нМ, не более 2,7 нМ, не более 2,8 нМ, не более 2,9 нМ, не более 3 нМ, не более 3,1 нМ, не более 3,2 нМ, не более 3,3 нМ, не более 3,4 нМ, не более 3,5 нМ, не более 3,6 нМ, не более 3,7 нМ, не более 3,8 нМ, не более 3,9 нМ, не более 4,0 нМ, не более 4,1 нМ, не более 4,2 нМ, не более 4,3 нМ, не более 4,4 нМ, не более 4,5 нМ, не более 4,6 нМ, не более 4,7 нМ, не более 4,8 нМ, не более 4,9 нМ, не более 5,0 нМ, не более 5,1 нМ, не более 5,2 нМ, не более 5,3 нМ, не более 5,4 нМ, не более 5,5 нМ, не более 5,6 нМ, не более 5,7 нМ, не более 5,8 нМ, не более 5,9 нМ, не более 6,0 нМ, не более 6,1 нМ, не более 6,2 нМ, не более 6,3 нМ, не более 6,4 нМ, не более 6,5 нМ, не более 6,6 нМ, не более 6,7 нМ, не более 6,8 нМ, не более 6,9 нМ, не более 7,0 нМ, не более 7,1 нМ, не более 7,2 нМ, не более 7,3 нМ, не более 7,4 нМ, не более 7,5 нМ, не более 7,6 нМ, не более 7,7 нМ, не более 7,8 нМ, не более 7,9 нМ, не более 8,0 нМ, не более 8,1 нМ, не более 8,2 нМ, не более 8,3 нМ, не более 8,4 нМ, не более 8,5 нМ, не более

8,6 нМ, не более 8,7 нМ, не более 8,8 нМ, не более 8,9 нМ, не более 9,0 нМ, не более 9,1 нМ, не более 9,2 нМ, не более 9,3 нМ, не более 9,4 нМ, не более 9,5 нМ, не более 9,6 нМ, не более 9,7 нМ, не более 9,8 нМ, не более 9,9 нМ или не более 10,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его функциональный фрагмент представляет собой антитело к SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент антитела к SIRPα. В некоторых вариантах осуществления SIRPα выбран из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00346] В некоторых вариантах осуществления SIRPα представляет собой SIRPα яванского макака. В других вариантах осуществления антитело к SIRPα, предложенное в настоящем документе, связывается с SIRPα и уменьшает связывание CD47 с SIRPα.

[00347] В одном аспекте антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом. В одном варианте осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом, при этом эталонное антитело представляет собой IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом, при этом эталонное антитело представляет собой эталонное антитело к SIRPα. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом к SIRPα, при этом эталонное антитело к SIRPα содержит легкую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTLTCSASSSVSSSYLYWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVP
ARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAASYFCHQWSSYPRTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:224) и тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности

EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYYIHWVQQRTEQGLEWIGRIDPEDGETK
YAPKFQDKATITADTSSNTAYLHLSSLTSEDTAVYYCARWGAYWGQGTLVTVSAASTK

GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:225).

[00348] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом, таким как IgG1 изотипического контроля или эталонное антитело к SIRPα, при этом снижение иммуногенности может составлять примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90%, примерно 95%, примерно 99% или примерно 99,99%. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом, таким как IgG1 изотипического контроля или эталонное антитело к SIRPα, при этом снижение иммуногенности может составлять 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%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,99%. Кроме того, снижение иммуногенности может составлять от примерно 50% до примерно 90%, от примерно 60% до примерно 90%, от примерно 70% до примерно 90%, от примерно 80% до примерно 90%, от примерно 50% до примерно 99%, от примерно 60% до примерно 99%, от примерно 70% до примерно 99%, от примерно 80% до примерно 99% или от примерно 90% до примерно 99%.

[00349] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом, таким как IgG1 изотипического контроля или эталонное антитело к SIRPα, при этом иммуногенность антител к SIRPα или их фрагментов составляет не более 20%, не более 19%, не более 18%, не более 17%, не более 16%, не более 15%, не более 14%, не более 13%, не более 12%, не более 11%, не более 10%, не более 9,5%, не более 9%, не более 8,5%, не более 8%, не более 7,5%, не более 7%, не более 6,5%, не более 6%, не более 5,5%, не более 5%, не более 4,5%, не более 4%, не более 3,5%, не более 3%, не более 2,5%, не более 2%, не более 1,5%, не более 1%, не более 0,9%, не более 0,8%, не более 0,7%, не более 0,6%, не более 0,5%, не более 0,4%, не более 0,3%, не более 0,2%, не более 0,1% или ниже, как определено по шкале иммуногенности антител EpiMatrix, как дополнительно описано в Примере 7. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, имеют верхний предел иммуногенности, описанный в предыдущем предложении, и нижний предел 0,01 или 0,001%, как определено по шкале иммуногенности антител EpiMatrix, как описано в Примере 7.

[00350] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, обладают пониженной иммуногенностью по сравнению с эталонным антителом, таким как IgG1 изотипического контроля или эталонное антитело к SIRPα, при этом иммуногенность антител к SIRPα или их фрагментов составляет примерно 1%, примерно 0,9%, примерно 0,8%, примерно 0,7%, примерно 0,6%, примерно 0,5%, примерно 0,4%, примерно 0,3%, примерно 0,2%, примерно 0,15%, примерно 0,1% или ниже, как определено по шкале иммуногенности антител EpiMatrix, как описано в Примере 7.

[00351] В некоторых вариантах осуществления значения $K_Д$ и EC_{50} оценивают методами, описанными в данном документе. В других вариантах осуществления значения $K_Д$ и EC_{50} оцениваются другими методами, известными специалистам в данной области техники (*например*, поверхностным плазмонным резонансом, реализованным в BiaCore®, анализом связывания на основе сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS, англ.: fluorescence activated cell sorting) и/или анализами ИФА). В конкретных вариантах осуществления значения $K_Д$ и EC_{50} оцениваются поверхностным плазмонным резонансом, реализованным в анализах BiaCore®, анализами связывания на основе сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS, англ.: fluorescence activated cell sorting) и/или анализами ИФА.

[00352] В одном аспекте, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более или все полиморфные формы SIRPα, известные специалисту в данной области, например, один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более или все полиморфные формы SIRPα, описанные в публикации Takenaka K, et al., Nat Immunol. 2007 Dec;8(12):1313-23, которая включена в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки.

[00353] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают любой один или любую комбинацию из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6 (SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO:150 в

домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO:154 в домене IgV).

[00354] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают любой один полиморфизм SIRPα, выбранный из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00355] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают две или более полиморфные формы SIRPα, выбранные из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00356] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают три или более полиморфные формы SIRPα, выбранные из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00357] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его

антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают четыре или более полиморфные формы SIRPα, выбранные из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00358] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают пять или более полиморфных форм SIRPα, выбранных из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00359] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают шесть или более полиморфные формы SIRPα, включая SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO:149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO:150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO:151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO:152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO:153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO:154 в домене IgV.

[00360] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет

совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00361] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет

совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00362] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе,

специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00363] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые

клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00364] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00365] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их

фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00366] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00367] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα

человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00368] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00369] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти

или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00370] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00371] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4,

v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00372] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00373] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα

человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00374] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00375] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в

домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00376] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00377] В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий

SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в

настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV

[00378] Как известно специалисту в данной области, одной из клинических оценок биологических средств, нацеленных на клеточные антигены, является занятость рецептора (RO), чтобы продемонстрировать, что лекарство связывает соответствующую мишень. RO можно оценить методами, известными специалисту в данной области, например, как описано в публикации Liang M. et al., Cytometry B Clin Cytom. 2016 Mar; 90(2): 117-127, которая включена в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. В изобретении дополнительно предложен анализ конкурентного связывания рецептора. В анализе используется неконкурентное антитело к SIRPα, которое можно использовать для идентификации молекул SIRPα, как связанных, так и несвязанных SIRPAB-11-K322A на клетках, экспрессирующих SIRPα. Вкратце, цельную кровь инкубировали с флуоресцентно меченными антителами для идентификации ключевых субпопуляций лейкоцитов, а также с двумя антителами, специфичными к SIRPα, одно из которых связывается в присутствии SIRPAB-11-K322A (неконкурентного), меченного Alexa Fluor 488, и одно из которых связывается только в отсутствие SIRPAB-11-K322A (конкурентного), меченного Alexa Fluor 647. Уровни окрашивания двух антител к SIRPα рассчитываются для подгрупп лейкоцитов, и, исходя из этого, уровни занятости рецептора SIRPAB-11-K322A могут быть рассчитаны с использованием следующего уравнения:% RO SIRPα=100% * ((1 - (конкурентное AF647 факт./конкурентное AF647 предварительная доза) ÷ (неконкурентное AF488 факт./ неконкурентное AF488 предварительная доза)).

[00379] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно 100% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 95% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 90% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 85% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения

пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 75% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 70% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 65% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 60% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 55% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 50% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 45% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 40% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 35% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 30% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту.

[00380] В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно 100% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72

часа после введения пациенту и сохраняет примерно 100% занятости в течение следующих 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 95% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 95% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 90% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 90% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 85% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 85% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 80% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 75% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 75% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 70% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 70% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 65% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 65% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 60% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 60% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 55% занятости

рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 55% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 50% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 50% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 45% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 45% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 40% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 40% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 35% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 35% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 30% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 30% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов.

[00381] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно 100% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно 90% занятости в течение следующих 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 95% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 85% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 90% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 80% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает

примерно или по меньшей мере 85% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 75% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 70% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 75% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 65% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 70% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 60% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 65% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 55% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 60% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 50% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 55% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 45% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 50% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 40% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 45% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 35% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные

в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 40% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 30% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 35% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 25% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 30% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 20% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов.

[00382] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно 100% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно 80% занятости в течение следующих 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 95% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 75% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 90% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 70% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 85% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 65% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 80% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 60% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 75% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 55% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах

осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 70% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 50% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 65% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 45% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 60% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 40% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 55% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 35% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 50% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 30% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 45% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 25% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 40% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 20% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 35% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 15% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, достигает примерно или по меньшей мере 30% занятости рецептора SIRPα примерно через 6, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 часа после введения пациенту и сохраняет примерно или по меньшей мере 10% занятости еще 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84

или 96 часов.

[00383] В некоторых вариантах осуществления занятость рецептора, описанная в предыдущих 4 абзацах, может быть достигнута и/или поддерживаться разовой дозой 0,1 мг/кг, 0,2 мг/кг, 0,3 мг/кг, 0,4 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,6 мг/кг, 0,7 мг/кг, 0,8 мг/кг, 0,9 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,1 мг/кг, 1,2 мг/кг, 1,3 мг/кг, 1,4 мг/кг, 1,5 мг/кг, 1,6 мг/кг, 1,7 мг/кг, 1,8 мг/кг, 1,9 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,1 мг/кг, 2,2 мг/кг, 2,3 мг/кг, 2,4 мг/кг, 2,5 мг/кг, 2,6 мг/кг, 2,7 мг/кг, 2,8 мг/кг, 2,9 мг/кг или 3,0 мг/кг антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, представленного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления занятость рецептора, описанная в предыдущих 4 абзацах, может быть достигнута и/или поддерживаться, как описывается в данном параграфе, разовой дозой 25 мг, 30 мг, 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 90 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг, 800 мг, 850 мг, 900 мг, 950 мг, 1000 мг, 1050 мг, 1100 мг, 1150 мг, 1200 мг, 1250 мг, 1300 мг, 1350 мг, 1400 мг, 1450 мг, 1500 мг, 1550 мг, 1600 мг, 1650 мг, 1700 мг, 1750 мг, 1800 мг, 1850 мг, 1900 мг, 1950 мг, 2000 мг, 2100 мг, 2200 мг, 2300 мг, 2400 мг, 2500 мг, 2600 мг, 2700 мг, 2800 мг, 2900 мг, 3000 мг, 3100 мг, 3200 мг, 3300 мг, 3400 мг, 3500 мг, 3600 мг, 3700 мг, 3800 мг, 3900 мг или 4000 мг антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, представленного в данном документе.

[00384] Как известно специалисту в данной области техники, фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами можно определить как процентное содержание фагоцитотических макрофагов, а увеличение фагоцитоза раковых клеток совместно культивированными макрофагами можно определить как процентное или кратное увеличение, или как изменение процентного содержания фагоцитотических макрофагов. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов (*например*, в популяции макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками) на примерно 10%, примерно 15%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 55%, примерно 60%, примерно 65%, примерно 70%, примерно 75%, примерно 80%, примерно 85%, примерно 90%, примерно 95% или примерно 99%.

[00385] В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов (*например*, в популяции

макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками) на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99%.

В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (*например*, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз макрофагов (например, макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками) на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 55%, примерно 60%, примерно 65%, примерно 70%, примерно 75%, примерно 80%, примерно 85%, примерно 90%, примерно 95%, примерно 100%, примерно 125%, примерно 150%, примерно 175%, примерно 200%, примерно 250%, примерно 300%, примерно 400%, примерно 500%, примерно 600%, примерно 700%, примерно 800%, примерно 900% или примерно 1000% по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля. В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (*например*, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз макрофагов (например, макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками) на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 175%, по меньшей мере 200%, по меньшей мере 250%, по меньшей мере 300%, по меньшей мере 400%, по меньшей мере 500%, по меньшей мере 600%, по меньшей мере 700%, по меньшей мере 800%, по меньшей мере 900% или по меньшей мере 1000% по сравнению с контролем без лечения или антителом изотипического контроля.

[00386] В некоторых вариантах осуществления увеличение фагоцитоза определенных раковых клеток за счет совместно культивированных макрофагов, описанных выше, является результатом уменьшения связывания между CD47 на определенных раковых клетках и SIRPα на макрофагах, уменьшения связывания между SIRPα на определенных раковых клетках и CD47 на макрофагах, и/или уменьшения как связывания между CD47 на определенных раковых клетках и SIRPα на макрофагах, так и связывания между SIRPα на определенных раковых клетках и CD47 на макрофагах. В

изобретении дополнительно предложено, что раковые клетки могут происходить из колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза или DLBCL, которые содержат клетки, экспрессирующие CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В изобретении также предложено, что раковые клетки могут происходить из НХЛ, таких как DLBCL, фолликулярная лимфома, лимфома маргинальной зоны и лимфома из клеток мантии, которые имеют клетку, экспрессирующую CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В изобретении дополнительно предложено, что раковые клетки могут происходить из фолликулярной лимфомы степени 1, фолликулярной лимфомы степени 2, фолликулярной лимфомы степени 3a, фолликулярной лимфомы степени 3b, рецидивирующей фолликулярной лимфомы (включая, *например,* степени 1, 2, 3a и 3b), рефрактерной фолликулярной лимфомы (включая, *например*, степени 1, 2, 3a и 3b), рецидивирующей DLBCL или рефрактерной DLBCL, при этом рак имеет клетку, экспрессирующую CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα.

[00387] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, увеличивают фагоцитотическую активность макрофагов (*например*, макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками) в качестве монотерапии, например, в качестве единственного лекарственного средства для элиминирования раковых клеток, культивируемых совместно с макрофагами. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в настоящем документе, увеличивает фагоцитотическую активность макрофагов (*например*, макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками), когда антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент используют в комбинации со вторым лекарственным средством для уничтожения раковых клеток, например вторым лекарственным средством, выбранным из группы, состоящей из цетуксимаба и ритуксимаба. В одном варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб. В другом варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой ритуксимаб.

[00388] В изобретении дополнительно предложено, что в некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в настоящем документе, действует синергетически со вторым лекарственным средством в увеличении фагоцитотической активности макрофагов (*например*, макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками). Такой синергизм в увеличении фагоцитотической активности относится к тому, что предложенное в данном документе антитело к SIRPα (или его антигенсвязывающий фрагмент) и второе лекарственное средство, при использовании в комбинации, вызывают увеличение фагоцитотической активности макрофагов, превышающее сумму увеличений, индуцированных антителом к SIRPα (или его антигенсвязывающим фрагментом) и вторым лекарственным средством по отдельности. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в настоящем документе, специфически

связывается с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и действует синергетически со вторым лекарственным средством в увеличении фагоцитотической активности макрофагов (*например*, макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками), при этом разница между процентным содержанием синергетически индуцированных фагоцитотических макрофагов и суммой процентного содержания фагоцитотических макрофагов, индуцированных антителом к SIRPα (или его антигенсвязывающим фрагментом) и вторым лекарственным средством отдельно (*например*, математически: процент фагоцитотических$_{\text{синергия}}$ - (процент фагоцитотических $_{\text{к SIRPα}}$+процент фагоцитотических $_{\text{второе средство}}$)) составляет по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75% или по меньшей мере 80%. В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и действуют синергетически со вторым лекарственным средством в увеличении фагоцитотической активности макрофагов (*например*, макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками), при этом разница между процентным содержанием синергетически индуцированных фагоцитотических макрофагов и суммой процентного содержания фагоцитотических макрофагов, индуцированных антителом к SIRPα (или его антигенсвязывающим фрагментом) и вторым лекарственным средством отдельно, составляет примерно 10%, примерно 15%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 55%, примерно 60%, примерно 65%, примерно 70%, примерно 75% или примерно 80%.

[00389] Анализы фагоцитоза, включая фагоцитоз макрофагами (*например*, макрофагами человека), известны специалисту в данной области техники. В типичном анализе фагоцитоза оценка антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, блокирование связывания CD47 и увеличение фагоцитоза раковых клеток определяется in vitro путем автоматического подсчета «поглощенных» раковых клеток, меченных первым красителем, внутри макрофагов, меченных вторым красителем. Вкратце, титрованные антитела к SIRPα или их антигенсвязывающие фрагменты, предложенные в настоящем документе, добавляют к предварительно дифференцированным макрофагам с последующим совместным культивированием с меченными сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеина (CSFE, первый краситель) раковыми клетками, опсонизированными специфическими антителами к SIRPα или их антигенсвязывающими фрагментами, предложенными в

данном документе (единственное средство или монотерапия), или вторым нацеленным на рак антителом и антителами к SIRPα или их антигенсвязывающими фрагментами, предложенными в данном документе (комбинация). Активность фагоцитоза количественно определяется количеством меченых раковых клеток в макрофагах, меченных аллофикоцианином (APC, второй краситель) (например, меченных APC макрофагах CD14). Интенсивность зеленого (CFSE) измеряется в каждом из меченых APC макрофагов, а пороговые значения используются для идентификации CFSE-положительных макрофагов. В некоторых вариантах осуществления в экспериментах наблюдается порог приблизительно 1000 MFI с отклонением не более нескольких сотен MFI. Для каждого образца рассчитанный процент фагоцитоза определяется как: [(количество CFSE-положительных макрофагов)/(общее количество макрофагов)] × 100. Другие анализы фагоцитоза также известны специалисту в данной области техники и представлены в данном документе, например, как описано в Hamczyk MR et al., Methods Mol Biol. 2015;1339:235-46, и Yan, Q et al., Bio Protoc. 2015 Feb 20; 5(4): e1406, которые включены в качестве ссылки в полном объеме. Коммерческие форматы /наборы для анализа фагоцитоза также доступны и представлены в данном документе, включая, например, анализ фагоцитоза IncuCyte® от Essen BioScience (Ann Arbor, Michigan) и анализ фагоцитоза CytoSelect™ от Cell Biolabs, Inc. (Сан-Диего, Калифорния).

[00390] Как ясно из описания по всему изобретению, в некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, усиливают фагоцитотическую активность макрофагов или других иммунных клеток, обладающих фагоцитотической активностью, при этом SIRPα (*например*, любой один или любая комбинация из двух гаплотипов SIRPα, выбранных из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO: 154 в домене IgV) экспрессируется на макрофаге и/или других иммунных клетках, обладающих фагоцитотической активностью. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, усиливают фагоцитотическую активность макрофагов или других иммунных клеток, обладающих фагоцитотической активностью, при этом SIRPα (*например*, любой один или любая комбинация из двух гаплотипов SIRPα, выбранных из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO: 154 в домене IgV) экспрессируется на раковых клетках. В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, усиливают фагоцитотическую активность макрофагов или других иммунных клеток, обладающих

фагоцитотической активностью, при этом SIRPα (*например*, любой один или любая комбинация из двух гаплотипов SIRPα, выбранных из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO: 154 в домене IgV) экспрессируется как на раковых клетках, так и на иммунных клетках, обладающих фагоцитотической активностью, включая макрофаги.

[00391] Антитела, которые индуцируют целевое перекрестное связывание Т-, NK-клеток человека или линий моноцитов, могут инициировать каскад системного высвобождения определенных провоспалительных цитокинов, что приводит к потенциально неблагоприятной системной иммунной реакции. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6), увеличивает фагоцитоз макрофагами (*например*, макрофагами, совместно культивируемыми с раковыми клетками), но не приводит к увеличению высвобождения провоспалительных цитокинов, включая, например, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNFα, интерферон гамма и гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор, у животного (*например*, человека или обезьяны) или в культивируемых клетках (*например*, культивируемых иммунных клетках или мононуклеарных клетках периферической крови). В некоторых вариантах осуществления отсутствие увеличения высвобождения провоспалительных цитокинов у животного (*например*, человека или обезьяны) или в культивируемых клетках (*например*, культивируемых иммунных клетках или мононуклеарных клетках периферической крови) оценивается путем сравнения высвобождения провоспалительных цитокинов после лечения антителом к SIRPα или его антигенсвязывающим фрагментом, представленным в настоящем документе, и после лечения контрольным антителом (*например*, клинически одобренные безопасные лекарственные антитела, такими как цетуксимаб), и отсутствие увеличения высвобождения провоспалительных цитокинов определяют, когда уровни высвобождения провоспалительных цитокинов, индуцированные связыванием антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, представленного в настоящем документе, существенно не отличаются от уровней, индуцированных контрольным антителом. В некоторых вариантах осуществления контрольное антитело представляет собой антитело изотипического контроля. В других вариантах осуществления контрольное антитело представляет собой клинически одобренное безопасное лекарственное антитело. В некоторых вариантах осуществления клинически одобренное антитело представляет собой цетуксимаб.

[00392] В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, связываются с

SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6), увеличивает фагоцитоз макрофагами (*например*, макрофагами, совместно культивируемыми с раковыми клетками), но не увеличивает высвобождение одного или любой комбинации из двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или девяти провоспалительных цитокинов, выбранных из группы, состоящей из IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNFα, интерферона гамма и гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора, у животного (*например*, человека или обезьяны) или в культивируемых клетках (*например*, культивируемых иммунных клетках или мононуклеарных клетках периферической крови).

[00393] Как обсуждалось выше, в определенных ситуациях АЗКЦ, АЗКФ и/или КЗЦ могут иметь нежелательную цитотоксичность, неблагоприятную для клеток или животных. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе предложены антитела к SIRPα или их антигенсвязывающие фрагменты с ослабленной активностью АЗКЦ, АЗКФ и/или КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, имеют ослабленную активность АЗКЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, имеют ослабленную активность КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, имеют ослабленную активность АЗКФ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, имеют как ослабленную активность АЗКЦ, так и ослабленную активность КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, имеют как ослабленную активность АЗКЦ, так и ослабленную активность АЗКФ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, имеют как ослабленную активность КЗЦ, так и ослабленную активность КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, имеют ослабленную активность АЗКЦ, ослабленную активность АЗКФ и ослабленную активность КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля.

[00394] Как известно специалисту в данной области техники и как описано выше, в одном варианте осуществления активность АЗКЦ антитела может быть определена количественно как процентное количество клеток-мишеней, убитых эффекторными клетками (такими как NK-клетки), обработанными антителом (математически как

100×(убитые клетки-мишени)/(общее количество клеток-мишеней)), например, как выполнено в Tang, Y et al., J Immunol, 2007, 179 (5) 2815-2823, которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, обладают ослабленной активностью АЗКЦ, так что максимальная активность АЗКЦ составляет примерно 5%, примерно 10%, примерно 15%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45% или примерно 50% цитотоксичности, измеренной по процентному количеству убитых клеток-мишеней. В других вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, обладают ослабленной активностью АЗКЦ, так что максимальная активность АЗКЦ составляет не более 5%, не более 10%, не более 15%, не более 20%, не более 25%, не более 30%, не более 35%, не более 40%, не более 45% или не более 50% цитотоксичности, измеренной по процентному количеству убитых клеток-мишеней.

[00395] Как также известно специалистам в данной области техники и как описано выше, в одном варианте осуществления активность АЗКФ антитела может быть количественно определена как процент фагоцитотических эффекторных клеток (таких как макрофаги), когда эффекторные клетки культивируются совместно с клетками-мишенями, обработанными антителом (математически как 100 × (эффекторные клетки, которые поглотили одну или более клеток-мишеней)/(общее количество эффекторных клеток)). В некоторых конкретных вариантах осуществления активность АЗКФ антитела может быть определена количественно как процент фагоцитотических макрофагов, совместно культивируемых с аутологичными иммунными клетками CD3+ (собственная мишень), опсонизированными антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, обладают ослабленной активностью АЗКФ, так что максимальная активность АЗКФ составляет примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14%, примерно 15%, примерно 16%, примерно 17%, примерно 18%, примерно 19%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45% или примерно 50% фагоцитотических макрофагов, нацеленных на аутологичные Т-клетки и/или моноциты. В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, обладают ослабленной активностью АЗКФ, так что максимальная активность АЗКФ составляет не более 1%, не более 2%, не более 3%, не более 4%, не более 5%, не более 6%, не более 7%, не более 8%, не более 9%, не более 10%, не более 10%, не более 11%, не более 12%, не более 13%, не более 14%, не более 15%, не более 16%, не более 17%, не более 18%, не более 19%, не более 20%, не более 25%, не более 30%, не более 35%, не более 40%, не более 45% или не более 50% фагоцитотических макрофагов, нацеленных на аутологичные Т-клетки и/или моноциты.

[00396] Точно так же, как известно специалисту в данной области техники, активность КЗЦ антитела может быть оценена в соответствии с EC_{50} антитела, которое вызывает КЗЦ. В такой оценке антитело с более высоким значением EC_{50} при КЗЦ указывает на то, что антитело обладает ослабленной активностью КЗЦ по сравнению с другим антителом, обладающим более низким значением EC_{50}. В некоторых конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в настоящем документе, обладает ослабленной активностью КЗЦ, так что его значение EC_{50} при КЗЦ составляет примерно 50 нМ, примерно 100 нМ, примерно 200 нМ, примерно 300 нМ, примерно 400 нМ, примерно 500 нМ, примерно 600 нМ, примерно 700 нМ, примерно 800 нМ, примерно 900 нМ, примерно 1000 нМ, примерно 2000 нМ, примерно 3000 нМ, примерно 4000 нМ, примерно 5000 нМ, примерно 6000 нМ, примерно 7000 нМ, примерно 8000 нМ, примерно 9000 нМ, примерно 10^4 нМ, примерно 10^5 нМ, примерно 10^6 нМ, примерно 10^7 нМ, примерно 10^8 нМ, примерно 10^9 нМ, примерно 10^{10} нМ, примерно 10^{11} нМ, примерно 10^{12} нМ, примерно 10^{13} нМ, примерно 10^{14} нМ, примерно 10^{15} нМ, примерно 10^{16} нМ или примерно 10^{17} нМ. В других конкретных вариантах осуществления антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в настоящем документе, обладает ослабленной активностью КЗЦ, так что его значение EC_{50} при КЗЦ составляет по меньшей мере 50 нМ, по меньшей мере 100 нМ, по меньшей мере 200 нМ, по меньшей мере 300 нМ, по меньшей мере 400 нМ, по меньшей мере 500 нМ, по меньшей мере 600 нМ, по меньшей мере 700 нМ, по меньшей мере 800 нМ, по меньшей мере 900 нМ, по меньшей мере 1000 нМ, по меньшей мере 2000 нМ, по меньшей мере 3000 нМ, по меньшей мере 4000 нМ, по меньшей мере 5000 нМ, по меньшей мере 6000 нМ, по меньшей мере 7000 нМ, по меньшей мере 8000 нМ, по меньшей мере 9000 нМ, по меньшей мере 10^4 нМ, по меньшей мере 10^5 нМ, по меньшей мере 10^6 нМ, по меньшей мере 10^7 нМ, по меньшей мере 10^8 нМ, по меньшей мере 10^9 нМ, по меньшей мере 10^{10} нМ, по меньшей мере 10^{11} нМ, по меньшей мере 10^{12} нМ, по меньшей мере 10^{13} нМ, по меньшей мере 10^{14} нМ, по меньшей мере 10^{15} нМ, по меньшей мере 10^{16} нМ или по меньшей мере 10^{17} нМ.

4.3.1.1 Поликлональные антитела

[00397] Антитела по настоящему изобретению могут включать поликлональные антитела. Способы получения поликлональных антител известны специалисту в данной области техники. Поликлональные антитела можно получать в организме млекопитающего, например, посредством одной или более инъекций иммунизирующего агента и, при необходимости, адъюванта. Как правило, иммунизирующий агент и/или адъювант вводят млекопитающему путем нескольких подкожных или внутрибрюшинных инъекций. Иммунизирующий агент может включать полипептид SIRPα или его слитый белок. Может быть целесообразно конъюгировать иммунизирующий агент с белком, который, как известно, является иммуногенным в организме иммунизируемого млекопитающего, или иммунизировать млекопитающее белком и одним или более адъювантами. Примеры таких иммуногенных белков включают, но не ограничиваются

этим, гемоцианин лимфы улитки, сывороточный альбумин, бычий тироглобулин и ингибитор трипсина соевых бобов. Примеры адъювантов, которые можно применять, включают Ribi, CpG, Poly 1C, полный адъювант Фрейнда и адъювант MPL-TDM (монофосфорил-липид А, синтетический дикориномиколят трегалозы). Специалист в данной области техники сможет выбрать протокол иммунизации без проведения необязательных экспериментов. Затем у млекопитающего можно брать кровь и проводить анализ сыворотки в отношении титра антител к SIRPα. При необходимости, млекопитающему можно проводить бустерные инъекции до тех пор, пока титр антител не возрастет или не выйдет на плато. В дополнительном или альтернативном варианте от иммунизированного животного можно получать лимфоциты для слияния и получения моноклональных антител из гибридомы, как описано ниже.

4.3.1.2 Моноклональные антитела

[00398] Антитела по настоящему изобретению в альтернативном варианте могут представлять собой моноклональные антитела. Моноклональные антитела можно получать гибридомным способом, впервые описанным Kohler et al., 1975, Nature 256:495-97, или можно получать методами рекомбинантных ДНК (*смотрите, например*, патент США № 4816567).

[00399] В гибридомном способе мышь или другое подходящее животное-хозяина, такое как хомяка, иммунизируют, как описано выше, чтобы вызвать выработку лимфоцитов, которые вырабатывают или способны вырабатывать антитела, которые будут специфически связываться с белком, используемым для иммунизации. В альтернативном варианте лимфоциты можно иммунизировать in vitro. После иммунизации лимфоциты выделяют и затем сливают с клеточной линией миеломы, используя подходящий агент для слияния, такой как полиэтиленгликоль, для получения гибридомной клетки (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 59-103 (1986)).

[00400] Полученные таким образом гибридомные клетки высевают и выращивают в подходящей культуральной среде, которая, в определенных вариантах осуществления, содержит одно или более веществ, которые ингибируют рост или выживаемость неслитых, родительских клеток миеломы (также называемых партнерами по слиянию). Например, если в родительских клетках миеломы отсутствует фермент гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), селективная культуральная среда для гибридом, как правило, содержит гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), которые препятствуют росту клеток с дефицитом HGPRT.

[00401] Типовыми клетками-партнерами по слиянию миеломы являются те, которые способны к эффективному слиянию, поддержанию стабильного высокого уровня выработки антитела отобранными вырабатывающими антитела клетками и чувствительны к селективной среде, которая позволяет проводить отделение от неслитых родительских клеток. Типовые клеточные линии миеломы представляют собой мышиные линии миеломы, такие как SP-2 и производные, например, клетки X63-Ag8-653, доступные от Американской коллекции типовых культур (Manassas, VA), и полученные из мышиных

опухолей MOPC-21 и MPC-11, доступные от Центра распределения клеток института Солка (Сан-Диего, Калифорния). Линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мышей и человека также были описаны как пригодные для получения человеческих моноклональных антител (Kozbor, 1984, Immunol. 133:3001-05; и Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications 51-63 (1987)).

[00402] Культуральную среду, в которой растут клетки гибридомы, анализируют в отношении выработки моноклональных антител, направленных против антигена. Специфичность связывания моноклональных антител, вырабатываемых клетками гибридомы, определяют с помощью иммунопреципитации или in vitro анализа связывания, такого как РИА или ИФА. Аффинность связывания моноклонального антитела можно определить, например, с помощью анализа Скэтчарда, описанного в Munson et al., 1980, Anal. Biochem. 107:220-39.

[00403] После идентификации клеток гибридомы, которые вырабатывают антитела с необходимой специфичностью, аффинностью и/или активностью, клоны можно субклонировать с помощью процедур предельного разведения и выращивать стандартными способами (Goding, *выше*). Подходящие для этих целей культуральные среды включают, например среду, DMEM или RPMI-1640. Кроме того, клетки гибридомы можно выращивать in vivo в виде асцитных опухолей в организме животного, например, посредством В/Б инъекции клеток мышам.

[00404] Моноклональные антитела, секретируемые субклонами, удобно отделять от культуральной среды, асцитной жидкости или сыворотки с помощью традиционных процедур очистки антител, таких как, например, аффинная хроматография (*например*, с применением протеина А или протеина G-сефарозы) или ионообменная хроматография, хроматография с гидроксиапатитом, гель-электрофорез, диализ *и т. д.*

[00405] ДНК, кодирующую моноклональные антитела, легко выделять и секвенировать с помощью традиционных процедур (*например*, используя олигонуклеотидные зонды, способные специфически связываться с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи мышиных антител). Клетки гибридомы могут служить источником такой ДНК. После выделения ДНК можно помещать в экспрессионные векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяев, такие как клетки E. coli, клетки обезьян COS, клетки яичника китайского хомяка (CHO) или клетки миеломы, которые в ином случае не вырабатывают белок антитела, чтобы осуществить синтез моноклональных антител в рекомбинантных клетках-хозяевах. Статьи с обзорами рекомбинантной экспрессии в бактериях ДНК, кодирующей антитело, включают Skerra et al., 1993, Curr. Opinion in Immunol. 5:256-62 and Plückthun, 1992, Immunol. Revs. 130:151-88.

[00406] В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает эпитоп SIRPα, содержит аминокислотную последовательность домена VH и/или аминокислотную последовательность домена VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью, которая гибридизируется с (1) комплементарной последовательностью нуклеотидной

последовательности, кодирующей любой из доменов VH и/или VL, описанных в данном документе, в жестких условиях (*например*, гибридизация со связанной с фильтром ДНК в 6X хлориде натрия/цитрате натрия (SSC) при около 45°C с последующими одной или более промывками в 0,2X SSC/0,1% ДСН при около 50-65 °C), в условиях высокой жесткости (*например*, гибридизация со связанной с фильтром нуклеиновой кислотой в 6X SSC при около 45°C с последующими одной или более промывками в 0,1X SSC/0,2% ДСН при около 68 °C), или в других жестких условиях гибридизации, которые известны специалистам в данной области техники. *См.*, *например*, Current Protocols in Molecular Biology Vol. I, 6.3.1-6.3.6 и 2.10.3 (Ausubel et al. eds., 1989).

[00407] В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает эпитоп SIRPα, содержит аминокислотную последовательность VH CDR или аминокислотную последовательность VL CDR, кодируемую нуклеотидной последовательностью, которая гибридизируется с комплементарной последовательностью нуклеотидной последовательности, кодирующей любую из VH CDR и/или VL CDR, приведенных в **таблицах 1-2**, в жестких условиях (*например*, гибридизация со связанной с фильтром ДНК в 6X SSC при около 45°C с последующими одной или более промывками в 0,2X SSC/0,1% ДСН при около 50-65 °C), в условиях высокой жесткости (*например*, гибридизация со связанной с фильтром нуклеиновой кислотой в 6X SSC при около 45°C с последующими одной или более промывками в 0,1X SSC/0,2% ДСН при около 68 °C), или в других жестких условиях гибридизации, которые известны специалистам в данной области техники (*смотрите, например*, Ausubel et al., *выше*).

[00408] В дополнительно варианте осуществления моноклональные антитела или фрагменты антител могут быть выделены из фаговых библиотек антител, созданных с помощью технологий, описанных, например, в Antibody Phage Display: Methods and Protocols (O'Brien and Aitken eds., 2002). В целом, отбор синтетических клонов антител проводят путем скрининга фаговых библиотек, содержащих фаги, которые представляют различные фрагменты вариабельной области (Fv) антитела, слитые с белком оболочки фага. Скрининг таких фаговых библиотек проводят в отношении необходимого антигена. Клоны, экспрессирующие Fv-фрагменты, способные связываться с необходимым антигеном, адсорбируются на антигене и, таким образом, отделяются от несвязывающих клонов в библиотеке. Затем связывающие клоны элюируют от антигена и могут дополнительно обогащать посредством добавочных циклов адсорбции на антигена/элюирования.

[00409] На фаге могут быть функционально представлены вариабельные домены, как в виде одноцепочечных фрагментов Fv (scFv), в которых VH и VL ковалентно слиты посредством короткого гибкого пептида, так и в виде фрагментов Fab, в которых они слиты с константным доменом и взаимодействуют нековалентно, как описано, например, в Winter et al., 1994, Ann. Rev. Immunol. 12:433-55.

[00410] Репертуары генов VH и VL можно отдельно клонировать с помощью ПЦР и случайным образом рекомбинировать в фаговых библиотеках, по которым затем можно

проводить поиск в отношении антигенсвязывающих клонов, как описано в Winter et al., *выше*. Библиотеки из иммунизированных источников обеспечивают высокоаффинные антитела к иммуногену без необходимости создания гибридом. В альтернативном варианте можно клонировать наивный репертуар, чтобы обеспечить единый источник человеческих антител к широкому диапазону несобственных, а также собственных антигенов без какой-либо иммунизации, как описано в Griffiths et al., 1993, EMBO J 12:725-34. И наконец, наивные библиотеки также можно создавать синтетически, путем клонирования неперестроенных V-генных сегментов из стволовых клеток и применения ПЦР-праймеров, содержащих случайную последовательность, для кодирования высоковариабельных областей CDR3 и для осуществления перестройки in vitro, как описано, например, в Hoogenboom and Winter, 1992, J. Mol. Biol. 227:381-88.

[00411] Скрининг библиотек может быть достигнут различными методами, известными в данной области техники. Например, SIRPα (*например*, полипептид SIRPα, фрагмент или эпитоп) можно использовать для покрытия лунок адсорбционных планшетов, экспрессировать на клетках-хозяевах, прикрепленных к адсорбционным планшетам, или использовать в сортировке клеток, конъюгировать с биотином для захвата на покрытых стрептавидином гранулах или использовать в любом другом способе для пэннинга дисплейных библиотек. Отбору антител с медленной кинетикой диссоциации (*например*, хорошей аффинностью связывания) может способствовать применение длительных промывок и моновалентного фагового дисплея, как описано в Bass et al., 1990, Proteins 8:309-14 и WO 92/09690, и применение низкой плотности покрытия антигеном, как описано в Marks et al., 1992, Biotechnol. 10:779-83.

[00412] Антитела к SIRPα можно получать, разрабатывая подходящую процедуру скрининга антигенов для отбора представляющего интерес фагового клона с последующим конструированием полноразмерного клона антитела к SIRPα с применением последовательностей VH и/или VL (*например*, последовательностей Fv) или различных последовательностей CDR из последовательностей VH и VL из представляющего интерес фагового клона и подходящих последовательностей константной области (*например*, Fc), описанных в Kabat et al., *выше*.

[00413] В другом варианте осуществления антитело к SIRPα получают с использованием методов, как описано в Bowers et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA. 108:20455-60, *например*, платформы SHM-XHL™ (AnaptysBio, San Diego, CA). Вкратце, в этом подходе конструируют полностью человеческую библиотеку IgG в линии клеток млекопитающего (*например*, HEK293) в качестве стартовой библиотеки. Проводят отбор клеток млекопитающего, представляющих иммуноглобулин, который связывается с целевым пептидом или эпитопом (*например*, методом сортировки FACS), затем инициируемую индуцируемой активацией цитидиндезаминазой (AID) соматическую гипермутацию воспроизводят in vitro для расширения разнообразия изначально отобранного пула антител. После нескольких раундов созревания аффинности путем комбинации дисплея на поверхности клеток млекопитающих с in vitro соматической

гипермутацией создают высокоаффинные, высокоспецифические антитела к SIRPα. Дополнительные способы, которые можно использовать для создания библиотек антител и/или созревания аффинности антител, описаны, *например,* в патентах США №№ 8 685 897 и 8 603 930, и публикациях США №№ 2014/0170705, 2014/0094392, 2012/0028301, 2011/0183855 и 2009/0075378, которые все включены в данный документ посредством ссылки.

4.3.1.3 Фрагменты антител

[00414] В настоящем изобретении предложены антитела и фрагменты антител, которые связываются с SIRPα. В определенных ситуациях есть преимущество в том, чтобы использовать фрагменты антител, а не цельные антитела. Меньший размер фрагментов обеспечивает возможность более быстрого выведения и может приводить к улучшению доступа к клеткам, тканям или органам. Обзор определенных фрагментов антител *смотрите* в Hudson et al., 2003, Nature Med. 9:129-34.

[00415] Были разработаны различные способы для получения фрагментов антител. Традиционно эти фрагменты получали путем протеолитического расщепления интактных антител (*смотрите, например*, Morimoto et al., 1992, J. Biochem. Biophys. Methods 24:107-17; и Brennan et al., 1985, Science 229:81-83). Однако сейчас эти фрагменты можно получать непосредственно из рекомбинантных клеток-хозяев. Фрагменты антител Fab, Fv и scFv все можно экспрессировать и секретировать из клеток E. coli или дрожжей, обеспечивая, таким образом, легкое получение больших количеств этих фрагментов. Фрагменты антител можно выделять из фаговых библиотек антител, обсуждаемых выше. В альтернативном варианте фрагменты Fab'-SH можно выделять непосредственно из E. coli и химически связывать с образованием фрагментов $F(ab')_2$ (Carter et al., 1992, Bio/Technology 10:163-67). В соответствии с другим подходом фрагменты $F(ab')_2$ можно выделять непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев. Фрагменты Fab и $F(ab')_2$ с повышенным in vivo временем полужизни, содержащие остатки эпитопа связывания рецептора реутилизации, описаны, например, в патенте США № 5869046. Другие способы получения фрагментов антител очевидны для специалиста-практика. В определенных вариантах осуществления антитело представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (scFv) (*смотрите, например*, WO 93/16185; патенты США № 5571894 и 5587458). Fv и scFv имеют интактные сайты связывания, которые не содержат константные области; таким образом, они могут подходить для снижения неспецифического связывания во время in vivo применения. Слитые белки scFv можно конструировать для получения слияния эффекторного белка в амино- или карбокси-конце scFv (*смотрите, например*, Borrebaeck ed., *выше*). Фрагмент антитела также может представлять собой «линейное антитело», например, как описано в вышеприведенных ссылках. Такие линейные антитела могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими, например биспецифическими.

[00416] Меньшие полученные из антител связывающие структуры представляют собой отдельные вариабельные домены (V-домены), также называемые антителами на

основе одного вариабельного домена (sdAb). Определенные типы организмов, верблюжьи и хрящевые рыбы, в качестве части своей иммунной системы содержат высокоаффинные одинарные V-подобные домены, прикрепленные к Fc-эквивалентной доменной структуре. (Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50: 98-101; и Streltsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-49). V-подобные домены (называемые VhH у верблюжьих и V-NAR у акул), как правило, представляют длинные поверхностные петли, которые обеспечивают возможность проникновения в полости целевых антигенов. Также они стабилизируют выделенные домены VH путем маскировки гидрофобных поверхностных зон.

[00417] Эти домены VhH и V-NAR использовали для конструирования sdAb. Человеческие V-доменные варианты конструировали, используя отбор из фаговых библиотек и другие подходы, которые приводили к получению стабильных, характеризующихся высокой связывающей способностью полученных из VL- и VH доменов.

[00418] Предложенные в данном документе антитела включают молекулы иммуноглобулина и иммунологически активные части молекул иммуноглобулина, например, молекулы, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который связывается с эпитопом SIRPα, но не ограничиваются ими. Предложенные в данном документе молекулы иммуноглобулина могут принадлежать любому классу (*например*, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или любому подклассу (*например*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) молекул иммуноглобулина.

[00419] Варианты и производные антител включают функциональные фрагменты антител, которые сохраняют способность связываться с эпитопом SIRPα. Типовые функциональные фрагменты включают фрагменты Fab (*например*, фрагмент антитела, который содержит антигенсвязывающий домен и содержит легкую цепь и часть тяжелой цепи, связанные дисульфидной связью); Fab' (*например*, фрагмент антитела, содержащий один антигенсвязывающий домен, содержащий Fab и дополнительную часть тяжелой цепи, включая шарнирную область); $F(ab')_2$ (*например*, две молекулы Fab', соединенные межцепочечными дисульфидными связями в шарнирных областях тяжелых цепей; молекулы Fab' могут быть направлены на одинаковые или разные эпитопы); биспецифический Fab (*например*, молекулу Fab, имеющую два антигенсвязывающих домена, каждый из которых может быть направлен на отличный эпитоп); одну цепь, содержащую вариабельную область, также известную как scFv (*например*, вариабельная, антигенсвязывающая детерминативная область из одной легкой и одной тяжелой цепи антитела, связанных вместе цепью цепочкой из 10-25 аминокислот); дисульфид-связанный Fv или dsFv (*например*, вариабельная, антигенсвязывающая детерминативная область из одной легкой и одной тяжелой цепи антитела, связанных вместе дисульфидной связью); верблюдизированную VH (*например*, вариабельная, антигенсвязывающая детерминативная область из одной тяжелой цепи антитела, в которой некоторые аминокислоты в области контакта VH представляют аминокислоты, встречающиеся в тяжелой цепи верблюжьих антител природного происхождения); биспецифический scFv

(*например*, молекула scFv или dsFv, имеющая два антигенсвязывающих домена, каждый из которых может быть направлен на отличный эпитоп); диатело (*например*, димеризованный scFv, образуемый, когда домен VH первого scFv объединяется с доменом VL второго scFv, а домен VL первого scFv объединяется с доменом VH второго scFv; две антигенсвязывающие области диатела могут быть направлены на одинаковые или разные эпитопы); и триатело (*например*, тримеризованный scFv, образуемый аналогично диателу, но в котором три антигенсвязывающих домена объединены в один комплекс; три антигенсвязывающих домена могут быть направлены на одинаковые или разные эпитопы).

4.3.1.4 Гуманизированные антитела

[00420] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, могут представлять собой гуманизированные антитела, которые связывают SIRPα, включая SIRPα человека и/или макака. Например, гуманизированные антитела по настоящему изобретению могут содержать одну или более CDR, приведенных в **таблицах 1-2**. Различные способы гуманизации антител, не являющихся человеческими, известны в данной области техники. Например, гуманизированное антитело может иметь одно или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, который не является человеком. Эти нечеловеческие аминокислотные остатки часто называются «импортными» остатками, которые, как правило, взяты из «импортного» вариабельного домена. Гуманизацию можно осуществлять, например, следуя методу Jones et al., 1986, Nature 321:522-25; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-27; и Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-36), путем замещения последовательностей гипервариабельной области соответствующими последовательностями человеческого антитела.

[00421] В некоторых случаях гуманизированные антитела конструируют методом прививания CDR, в котором аминокислотные последовательности шести CDR родительского нечеловеческого антитела (*например*, грызуна) прививают в каркасную область человеческого антитела. Например, Padlan et al. Определили, что в действительности только около одной трети остатков в CDR контактируют с антигеном и назвали их «определяющими специфичность остатками» или SDR (Padlan et al., 1995, FASEB J. 9:133-39). В методе прививания SDR в каркасную область человеческого антитела прививают только остатки SDR (*смотрите, например*, Kashmiri et al., 2005, Methods 36:25-34).

[00422] Выбор человеческих вариабельных доменов, как легких, так и тяжелых цепей, которые будут использоваться для создания гуманизированных антител, может быть важен для снижения антигенности. Например, в соответствии с так называемым методом «наилучшего соответствия» проводят скрининг последовательности вариабельного домена нечеловеческого антитела (*например*, грызуна) по всей библиотеке известных человеческих последовательностей вариабельных доменов. Человеческую последовательность, которая наиболее близка к последовательности грызуна, можно выбрать в качестве человеческой каркасной области для гуманизированного антитела

(Sims et al., 1993, J. Immunol. 151:2296-308; и Chothia et al., 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). В другом методе используют конкретный каркас, полученный из консенсусной последовательности всех человеческих антител конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Тот же каркас может использоваться для нескольких разных гуманизированных антител (Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89; и Presta et al., 1993, J. Immunol. 151:2623-32). В некоторых случаях каркасная область получена из консенсусных последовательностей наиболее распространенных человеческих подклассов, V_L□ подгруппы I (V_L□I) и V_H подгруппы III (V_HIII). В другом способы используют гены человеческой зародышевой линии в качестве источника каркасных областей.

[00423] В альтернативной парадигме на основании сравнения CDR, называемой супергуманизацией, гомология FR является нерелевантной. Это способ состоит в сравнении нечеловеческой последовательности с функциональным репертуаром генов человеческой зародышевой линии. Затем отбирают те гены, которые кодируют одинаковые или близкородственные с мышиными последовательностями канонические структуры. Далее, среди генов, имеющих общие канонические структуры с нечеловеческим антителом, в качестве доноров FR отбирают те, которые характеризуются наибольшей гомологией в пределах CDR. И наконец, в эти FR прививают нечеловеческие CDR (*смотрите, например*, Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-25).

[00424] В общем случае также необходимо, чтобы антитела были гуманизированными с сохранением своей аффинности к антигену и других предпочтительных биологических свойств. Для достижения этой цели, в соответствии с одним способом гуманизированные антитела получают в процессе анализа родительских последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов, используя трехмерные модели родительских и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулина являются общедоступными и известны специалистам в данной области техники. Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и отображают возможные трехмерные конформационные структуры выбранных потенциально пригодных последовательностей иммуноглобулина. К ним относятся, например, WAM (Whitelegg and Rees, 2000, Protein Eng. 13:819-24), Modeller (Sali and Blundell, 1993, J. Mol. Biol. 234:779-815), и Swiss PDB Viewer (Guex and Peitsch, 1997, Electrophoresis 18:2714-23). Изучение таких представлений позволяет проводить анализ вероятной роли остатков в функционировании кандидатной последовательности иммуноглобулина, *например*, анализ остатков, которые влияют на способность кандидатного иммуноглобулина связываться со своим антигеном. Следовательно, можно выбирать и объединять остатки FR из реципиентных и импортных последовательностей таким образом, чтобы получить необходимую характеристику антитела, такую как повышенная аффинность к целевому(ым) антигену(ам). В общем случае остатки гипервариабельной области непосредственно и в наибольшей степени вовлечены в связывание антигена.

[00425] Другой способ гуманизации антител основан на критериях «человечности» антител, называемых Human String Content (HSC). Этот способ состоит в сравнении мышиной последовательности с репертуаром генов человеческой зародышевой линии, а разницу оценивают как HSC. Затем целевую последовательность гуманизируют путем максимизации ее HSC, а не используя глобальный показатель идентичности для создания множества разных гуманизированных вариантов (Lazar et al., 2007, Mol. Immunol. 44:1986-98).

[00426] Помимо вышеописанных способов для создания и отбора гуманизированных антител можно использовать эмпирические способы. Эти способы включают способы, основанные на создании больших библиотек гуманизированных вариантов и отборе наилучших клонов, используя технологии обогащения или технологии высокопроизводительного скрининга. Варианты антител можно выделять из библиотек фагового, рибосомального и дрожжевого дисплея, а также путем скрининга бактериальный колоний (*смотрите, например*, Hoogenboom, 2005, Nat. Biotechnol. 23:1105-16; Dufner et al., 2006, Trends Biotechnol. 24:523-29; Feldhaus et al., 2003, Nat. Biotechnol. 21:163-70; и Schlapschy et al., 2004, Protein Eng. Des. Sel. 17:847-60).

[00427] В подходе библиотеки FR набор вариантов остатков вносят в определенные позиции в FR с последующим скринингом библиотеки для отбора FR, которые наилучшим образом поддерживают привитые CDR. Подлежащие замене остатки могут включать некоторые или все из остатков «Vernier», определяемых как потенциально обеспечивающие вклад в структуру CDR (*смотрите, например*, Foote and Winter, 1992, J. Mol. Biol. 224:487-99), или из более ограниченного набора целевых остатков, определенных в Baca et al. (1997, J. Biol. Chem. 272:10678-84).

[00428] При перетасовке FR целые FR комбинируют с нечеловеческими CDR вместо создания комбинаторных библиотек выбранных вариантов остатков (*смотрите, например*, Dall'Acqua et al., 2005, Methods 36:43-60). Скрининг библиотек в отношении связывания можно проводить в два этапа, сначала гуманизируя VL, а после этого - VH. В альтернативном варианте можно использовать одноэтапный процесс перетасовки FR. Было показано, что такой процесс является более эффективным, чем двухэтапный скрининг, так как получаемые в результате антитела демонстрировали улучшенные биохимические и физико-химические свойства, включая увеличенную экспрессию, повышенную аффинность и термическую стабильность (*смотрите, например*, Damschroder et al., 2007, Mol. Immunol. 44:3049-60).

[00429] Метод «гуманиринга» основан на экспериментальном определении важных минимальных детерминант специфичности (MSD) и основан на последовательном замещении нечеловеческих фрагментов на библиотеки человеческих FR и оценке связывания. Он начинается с областей CDR3 нечеловеческих цепей VH и VL и постепенно замещает другие области нечеловеческого антитела на человеческие FR, включая CDR1 и CDR2 из VH и VL. Этот метод, как правило, приводит к сохранению эпитопов и идентификации антител из нескольких подклассов с различными CDR

человеческого V-сегмента. Гуманиринг также позволяет проводить выделение антител, которые на 91-96% гомологичны антителам человеческой зародышевой линии (*смотрите, например*, Alfenito, Cambridge Healthtech Institute's Third Annual PEGS, The Protein Engineering Summit, 2007).

[00430] Метод «человеческого конструирования» включает изменение нечеловеческого антитела или фрагмента антитела, таких как мышиное или химерное антитело или фрагмент антитела, путем осуществления определенных изменений в аминокислотной последовательности антитела для получения модифицированного антитела со сниженной иммуногенностью в организме человека, которое при этом сохраняет необходимые свойства связывания исходных нечеловеческих антител. В общем случае эта методика включает классификацию аминокислотных остатков нечеловеческого (*например*, мышиного) антитела как остатков «низкого риска», «умеренного риска» или «высокого риска». Эту классификацию проводят, используя расчет глобальных рисков/выгод, который позволяет оценить прогнозируемую выгоду осуществления конкретной замены (*например*, в отношении иммуногенности в организме человека) в сравнении с риском, что эта замена окажет отрицательное влияние на сворачивание получаемого в результате антитела. Конкретный человеческий аминокислотный остаток, подлежащий замене в заданной позиции (*например*, низкого или умеренного риска) последовательности нечеловеческого (*например*, мышиного) антитела, можно выбрать путем выравнивания аминокислотной последовательности из вариабельных областей нечеловеческого антитела с соответствующей областью специфической или консенсусной последовательности человеческого антитела. Аминокислотные остатки в позициях низкого или умеренного риска в нечеловеческой последовательности можно замещать соответствующими остатками в последовательности человеческого антитела в соответствии с выравниванием. Методики создания человеческих сконструированных белков более подробно описаны в Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7:805-14; патентах США № 5766886; 5770196; 5821123; и 5869619; и публикации PCT WO 93/11794.

4.3.1.5 Человеческие антитела

[00431] Антитела к SIRPα человека могут быть сконструированы путем комбинирования последовательности(ей) вариабельного домена клона Fv, выбранной из полученных от человека библиотек фагового дисплея, с известной(ыми) последовательностью(ями) константного домена человека. Альтернативно, моноклональные антитела к SIRPα человека по настоящему изобретению могут быть получены гибридомным методом. Клеточные линии миеломы человека и гетеромиеломы мыши и человека для получения моноклональных антител человека были описаны, например, в Kozbor, 1984, J. Immunol. 133:3001-05; Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications 51-63 (1987); и Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147:86-95.

[00432] Также можно получить трансгенных животных (например, мышей), которые способны после иммунизации продуцировать полный репертуар антител

человека в отсутствие продукции эндогенного иммуноглобулина. Трансгенных мышей, которые экспрессируют репертуары человеческих антител, использовали для создания высокоаффинных моноклональных антител с человеческими последовательностями против широкого ряда потенциальных лекарственных мишеней (*смотрите, например*, Jakobovits, A., 1995, Curr. Opin. Biotechnol. 6(5):561-66; Brüggemann and Taussing, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8(4):455-58; патенты США № 6075181 и 6150584; и Lonberg et al., 2005, Nature Biotechnol. 23:1117-25).

[00433] В качестве альтернативы человеческое антитело может быть получено посредством иммортализации человеческих В-лимфоцитов, продуцирующих антитело, направленное против целевого антигена (*например*, такие В-лимфоциты могут быть выделены у индивидуума или могут быть иммунизированы in vitro) (*смотрите, например*, Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy (1985); Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147(1):86-95; и патент США № 5750373).

[00434] Перетасовка генов также может использоваться для получения человеческих антител из нечеловеческих антител, например грызунов, где человеческое антитело имеет сходную аффинность и специфичность с исходным нечеловеческим антителом. В соответствии с этим способом, который также называется «эпитопным импринтингом» или «направляемым отбором», вариабельную область тяжелой или легкой цепи фрагмента нечеловеческого антитела, полученного методами фагового дисплея, как описано в данном документе, замещают репертуаром человеческих генов V-домена, создавая популяцию scFv- или Fab-химер, содержащих нечеловеческую цепь/человеческую цепь. Селекция с использованием антигена приводит к выделению химерного scFv или Fab цепи с нечеловеческой цепью/человеческой цепью, при этом человеческая цепь восстанавливает сайт связывания антигена, разрушенный при удалении соответствующей нечеловеческой цепи в первичном клоне фагового дисплея (*например*, эпитоп направляет (импринтирует) выбор партнера человеческой цепи) Когда процесс повторяется для замены оставшейся нечеловеческой цепи, получают человеческое антитело (*смотрите, например*, PCT WO 93/06213; и Osbourn et al., 2005, Methods 36:61-68). В отличие от традиционной гуманизации нечеловеческих антител путем перетасовки CDR, этот метод обеспечивает полностью человеческие антитела, которые не имеют остатков FR или CDR нечеловеческого происхождения. Примеры управляемого отбора для гуманизации мышиных антител к антигенам клеточной поверхности включают фолат-связывающий белок, присутствующий на раковых клетках яичников (*смотрите, например*, Figini et al., 1998, Cancer Res. 58:991-96) и CD147, который высоко экспрессируется на гепатоцеллюлярной карциноме (*смотрите, например*, Bao et al., 2005, Cancer Biol. Ther. 4:1374-80).

[00435] Потенциальный недостаток подхода управляемого отбора состоит в том, что перетасовка одной цепи антитела при сохранении другой константной может привести к дрейфу эпитопа. Чтобы сохранить эпитоп, распознаваемый нечеловеческим антителом, можно применять сохранение CDR (*смотрите, например*, Klimka et al., 2000,

Br. J. Cancer. 83:252-60; и Beiboer et al., 2000, J. Mol. Biol. 296:833-49). В этом методе обычно сохраняется нечеловеческий CDR3 VH, поскольку этот CDR может находиться в центре антигенсвязывающего сайта и может быть наиболее важной областью антитела для распознавания антигена. Однако, в некоторых случаях могут сохраняться CDR3 VH и CDR3 VL, а также CDR2 VH, CDR2 VL и CDR1 VL нечеловеческого антитела.

4.3.1.6 Биспецифические антитела

[00436] Биспецифический антитела представляют собой моноклональные антитела, обладающие специфичностью связывания по крайней мере с двумя разными антигенами. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела представляют собой человеческие или гуманизированные антитела. В некоторых вариантах осуществления одна из специфичностей связывания относится к SIRPα, а другая - к любому другому антигену. В некоторых вариантах осуществления одна из специфичностей связывания предназначена для SIRPα, а другая - для другого поверхностного антигена, экспрессируемого на клетках, экспрессирующих SIRPα. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела могут связываться с двумя разными эпитопами SIRPα. Биспецифические антитела можно получить в виде полноразмерных антител или фрагментов антител(*например*, биспецифических антител $F(ab')_2$).

[00437] Способы получения биспецифических антител известны в данной области техники, например, это коэкспрессия двух пар тяжелая цепь - легкая цепь иммуноглобулина, когда две тяжелые цепи имеют разную специфичность (*смотрите, например*, Milstein and Cuello, 1983, Nature 305:537-40). Для получения дополнительных сведений о создании биспецифических антител см., например, Биспецифические антитела (Kontermann ed., 2011).

[00438] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL антитела, как указано в Таблице 1 и CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH антитела, как указано в Таблице 2. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-2. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-3. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-4. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-5. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-6. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα,

содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-7. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-8. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-9. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-10. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-11. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-12. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-13. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL антитела, указанного в Таблице 9, и доменом VH антитела, как указано в Таблице 10. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-2. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-3. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-4. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-5. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-6. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-7. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-8. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-9. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-10. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-11. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-12. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-13.

[00439] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает (i) антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, и (ii) цетуксимаб. В

другом варианте осуществления биспецифическое антитело включает (i) антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, и (II) ритуксимаб.

[00440] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает (i) антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL антитела, как указано в Таблице 1, и CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH антитела, как указано в Таблице 2, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-1, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-2, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-3, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-4, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-5, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-6, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-7, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-8, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-9, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-10, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-11, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-12, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-13, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL антитела, указанного в Таблице 9, и доменом VH антитела, как указано в Таблице 10, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-1, и (ii) цетуксимаб. В

некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-2, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-3, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-4, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-5, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-6, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-7, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-8, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-9, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-10, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-11, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-12, и (ii) цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-13, и (ii) цетуксимаб.

[00441] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает (i) антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL антитела, как указано в Таблице 1, и CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH антитела, как указано в Таблице 2, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-1, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-2, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-3, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-4, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-5, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-6,

и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-7, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-8, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-9, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-10, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-11, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-12, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит антитело к SIRPα, содержащее CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH SIRPAB-13, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL антитела, указанного в Таблице 9, и доменом VH антитела, как указано в Таблице 10, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-1, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-2, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-3, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-4, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-5, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-6, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-7, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-8, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-9, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-10, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-11, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления

биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-12, и (ii) ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает антитело к SIRPα, содержащее домен VL и домен VH SIRPAB-13, и (ii) ритуксимаб.

4.3.1.7 Поливалентные антитела

[00442] Поливалентное антитело может быть интернализировано (и/или катаболизировано) клеткой, экспрессирующей антиген, с которым связываются антитела, быстрее, чем бивалентное антитело. Антитела по данному изобретению могут быть поливалентными антителами (которые не относятся к классу IgM) с тремя или более сайтами связывания антигена (например, четырехвалентными антителами), которые могут быть легко получены путем рекомбинантной экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи антитела. Мультивалентное антитело может содержать домен димеризации и три или более антигенсвязывающих сайтов. В определенных вариантах осуществления домен димеризации содержит (или состоит из) Fc-область или шарнирную область. В этом случае антитело будет содержать Fc-область и три или более антигенсвязывающих сайтов, расположенных амино-терминально к Fc-области. В некоторых вариантах осуществления многовалентное антитело содержит (или состоит из) от трех до примерно восьми антигенсвязывающих сайтов. В одном таком варианте осуществления поливалентное антитело содержит (или состоит из) четырех антигенсвязывающих сайтов. Поливалентное антитело содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (*например*, две полипептидные цепи), причем полипептидная цепь содержит два или более вариабельных домена. Например, полипептидная цепь(и) могут содержать VD1-$(X1)_n$-VD2-$(X2)_n$-Fc, где VD1 представляет собой первый вариабельный домен, VD2 представляет собой второй вариабельный домен, Fc представляет собой одну полипептидную цепь области Fc, X1 и X2 представляют собой аминокислоту или полипептид, а n равно 0 или 1. Например, полипептидная цепь(и) может содержать: VH-CH1-гибкий линкер-VH-CH1-цепь Fc-области; или VH-CH1-VH-CH1-цепь Fc-области. Поливалентное антитело в данном документе может дополнительно содержать по меньшей мере два (*например*, четыре) полипептида вариабельного домена легкой цепи. Мультивалентное антитело по данному изобретению может, например, содержать от около двух до около восьми полипептидов вариабельного домена легкой цепи. Рассматриваемые в данном документе полипептиды вариабельного домена легкой цепи содержат вариабельный домен легкой цепи и, необязательно, дополнительно содержат домен CL.

4.3.1.8 Конструирование Fc

[00443] Может быть желательно модифицировать предоставленное в данном документе антитело к SIRPα с помощью конструирования Fc. В некоторых вариантах осуществления модификация Fc-области антитела приводит к снижению или элиминации эффекторной функции антитела. В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция представляет собой АЗКЦ, АЗКФ и/или КЗЦ. В некоторых вариантах

осуществления эффекторная функция представляет собой АЗКЦ. В других вариантах осуществления эффекторная функция представляет собой АЗКФ. В других вариантах осуществления эффекторная функция представляет собой КЗЦ. В одном варианте осуществления эффекторная функция представляет собой АЗКЦ и АЗКФ. В одном варианте осуществления эффекторная функция представляет собой АЗКЦ и КЗЦ. В одном варианте осуществления эффекторная функция представляет собой АЗКФ и КЗЦ. В одном варианте осуществления эффекторная функция представляет собой АЗКЦ, АЗКФ и КЗЦ. Это может быть достигнуто путем введения одной или более аминокислотных замен в Fc-область антитела. Например, было показано, что замены в IgG1 человека с использованием остатков IgG2 в положениях 233-236 и остатков IgG4 в положениях 327, 330 и 331 значительно снижают АЗКЦ и КЗЦ (*смотрите, например*, Armour et al., 1999, Eur. J. Immunol. 29(8):2613-24; и Shields et al., 2001, J. Biol. Chem. 276(9): 6591-604). Другие варианты Fc предложены в другом месте в данном документе.

[00444] Для увеличения периода полужизни антитела в сыворотке можно включить эпитоп, связывающий рецептор спасения, в антитело (особенно во фрагмент антитела), например, как описано в патенте США 5739277. Термин «эпитоп связывания рецептора реутилизации» относится к эпитопу Fc-области молекулы IgG (*например*, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), который отвечает за повышение in vivo сывороточного времени полужизни молекулы IgG.

4.3.1.9 Альтернативные связывающие агенты

[00445] Настоящее изобретение охватывает агенты, не связывающие иммуноглобулин, которые специфически связываются с тем же эпитопом, что и описанное в данном документе антитело к SIRPα. В некоторых вариантах осуществления неиммуноглобулиновый связывающий агент определен как агент, который вытесняет или вытесняется антителом к SIRPα по настоящему изобретению в конкурентном анализе связывания. Эти альтернативные связывающие агенты могут включать в себя, например, любые сконструированные белковые остовы, известные в данной области. Такие остовы могут содержать одну или более CDR, как показано в **Таблицах 1-2**. Такие остовы включают, например, антикалины, в основе которых лежит остов липокалина, белковая структура характеризуемая наличием жесткого бета-барреля, который поддерживает гипервариабельные петли, которые образуют лиганд-связывающий сайт. Новые варианты специфичности связывания можно сконструировать путем нацеленного случайного мутагенеза в петлевых областях в комбинации с функциональным дисплеем и направляемым отбором (*смотрите, например*, Skerra, 2008, FEBS J. 275:2677-83). Другие подходящие остовы могут включать, например, аднектины или монотела на основе десятого внеклеточного домена фибронектина III человека (*смотрите, например*, Koide and Koide, 2007, Methods Mol. Biol. 352: 95-109); аффитела на основе Z-домена стафилококкового белка A (*смотрите, например*, Nygren et al., 2008, FEBS J. 275:2668-76); DARPin на основе белков с анкириновыми повторами (*смотрите, например*, Stumpp et al., 2008, Drug. Discov. Today 13:695-701); финомеры на основе домена SH3

человеческой протеинкиназы Fyn (*смотрите, например*, Grabulovski et al., 2007, J. Biol. Chem. 282:3196-204); аффитины на основе Sac7d из Sulfolobus acidolarius (*смотрите, например*, Krehenbrink et al., 2008, J. Mol. Biol. 383:1058-68); аффилины на основе человеческого γ-B-кристаллина (*смотрите, например*, Ebersbach et al., 2007, J. Mol. Biol. 372:172-85); авимеры на основе A-домена мембранных рецепторных белков (*смотрите, например*, Silverman et al., 2005, Biotechnol. 23:1556-61); цистеин-богатые ноттин-пептиды (*смотрите, например*, Kolmar, 2008, FEBS J. 275:2684-90); и сконструированные ингибиторы типа Kunitz (*смотрите, например*, Nixon and Wood, 2006, Curr. Opin. Drug. Discov. Dev. 9:261-68). Обзор *смотрите*, например, в Gebauer and Skerra, 2009, Curr. Opin. Chem. Biol. 13:245-55.

4.3.2 **Варианты антител**

[00446] В некоторых вариантах осуществления предусмотрены модификации аминокислотной последовательности антител, которые связываются с SIRPα или описаны в данном документе. Например, может возникать необходимость в улучшении аффинности связывания и/или других биологических свойств антитела, включая, но не ограничиваясь этим, специфичность, термостабильность, уровень экспрессии, эффекторные функции, гликозилирование, снижение иммуногенности или растворимость. Таким образом, в дополнение к антителам к SIRPα, описанные в данном документе, предполагается, что могут быть получены варианты антитела к SIRPα. Например, варианты антитела к SIRPα можно получать путем внесения соответствующих нуклеотидных изменений в кодирующую ДНК и/или путем синтеза необходимого антитела или полипептида. Специалистам в данной области техники понятно, что аминокислотные изменения могут изменять посттрансляционные процессы антитела к SIRPα, например, изменять число или позицию сайтов гликозилирования или изменять характеристики мембранного заякоривания.

[00447] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенного в данном документе, модифицируют химическим способом, например, путем ковалентного присоединения к антителу любого типа молекулы. Производные антител могут включать антитела, которые были химически модифицированы, например, гликозилированием, ацетилированием, пегилированием, фосфорилированием, амидированием, дериватизацией известными защитными/блокирующими группами, протеолитическим расщеплением, связыванием с клеточным лигандом или другим белком *и т. д.* Любая из многочисленных химических модификаций может быть проведена с помощью известных методик, включая, но не ограничиваясь ими, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез туникамицина *и т.д.* Кроме того, антитело может содержать одну или несколько неклассических аминокислот.

[00448] Вариации могут быть представлены заменой, делецией или вставкой одного или более кодонов, кодирующих антитело или полипептид, что приводит к изменению в аминокислотной последовательности по сравнению с нативной последовательностью антитела или полипептида. Аминокислотные замены могут быть

результатом замещения одной аминокислоты другой аминокислотой, имеющей сходные структурные и/или химические свойства, такого как замена лейцина серином, *например*, консервативные аминокислотные замены. Размер вставок или делеций, необязательно, может находиться в диапазоне от около 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замена, делеция или вставка включает менее 25 аминокислотных замен, менее 20 аминокислотных замен, менее 15 аминокислотных замен, менее 10 аминокислотных замен, менее 5 аминокислотных замен, менее 4 аминокислотных замен, менее 3 аминокислотных замен или менее 2 аминокислотных замен по сравнению с исходной молекулой. В конкретном варианте осуществления замена является консервативной аминокислотной заменой, осуществленной в одном или более предсказанных незаменимых аминокислотных остатках. Допустимую вариацию можно определить, систематически осуществляя вставки, делеции или замены аминокислот в последовательности и исследуя получаемые в результате варианты в отношении активности, проявляемой полноразмерной или зрелой нативной последовательностью.

[00449] Вставки аминокислотной последовательности включают амино- и/или карбокси-концевые слияния, имеющие длину в диапазоне от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или нескольких аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым остатком метионила. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом (*например*, для направляемой антителом ферментной пролекарственной терапии) или полипептидом, который повышает сывороточное время полужизни антитела.

[00450] Существенные модификации биологических свойств антитела осуществляют путем выбора замен, которые существенно отличаются по своему влиянию на сохранение (a) структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде складчатой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (c) объема боковой цепи. В альтернативном варианте можно осуществлять консервативные (*например*, в рамках группы аминокислот со сходными свойствами и/или боковыми цепями) замены так, чтобы сохранять или существенно не менять свойства. Аминокислоты можно объединить в группы в соответствии со сходными свойствами их боковых цепей (*смотрите, например*, Lehninger, Biochemistry 73-75 (2d ed. 1975)): (1) неполярные: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M); (2) незаряженные полярные: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q); (3) кислые: Asp (D), Glu (E); и (4) основные: Lys (K), Arg (R), His (H).

[00451] Альтернативно, встречающиеся в природе остатки можно разделить на группы на основе общих свойств боковой цепи: (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) кислые: Asp, Glu; (4) основные: His, Lys, Arg; (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: Gly, Pro; и (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[00452] Неконсервативные замены подразумевают замену представителя одного из

этих классов представителем другого класса. Такие замещенные остатки также можно вносить в сайты консервативных замен или в оставшиеся (неконсервативные) сайты. Соответственно, в одном варианте осуществления антитело или его фрагмент, которые связываются с эпитопом SIRPα, содержат аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности мышиного моноклонального антитела, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент, которые связываются с эпитопом SIRPα, содержат аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности, приведенной в **таблицах 1-4 и 9-10**. В другом варианте осуществления антитело или его фрагмент, которые связываются с эпитопом SIRPα, содержат аминокислотную последовательность VH CDR и/или VL CDR, которая по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VH CDR, приведенной в **таблице 2**, и/или идентична аминокислотной последовательности VL CDR, приведенной в **таблице 1**. Вариации можно получать, используя способы, известные в данной области техники, такие как олигонуклеотид-опосредованный (сайт-направленный) мутагенез, аланиновое сканирование и ПЦР-мутагенез. Сайт-направленный мутагенез (*смотрите, например*, Carter, 1986, Biochem J. 237:1-7; и Zoller et al., 1982, Nucl. Acids Res. 10:6487-500), кассетный мутагенез (*смотрите, например*, Wells et al., 1985, Gene 34:315-23), или другие известные методы могут быть выполнены с клонированной ДНК для получения вариантной ДНК антитела к SIRPα.

[00453] Любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании надлежащей конформации антитела к SIRPα, также может быть заменен, например, другой аминокислотой, такой как аланин или серин, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения аберрантного сшивания. И наоборот, цистеиновые связи могут быть добавлены к антителу к SIRPα для улучшения его стабильности (*например*, когда антитело является фрагментом антитела, таким как фрагмент Fv).

[00454] В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к SIRPα по настоящему изобретению представляет собой «деиммунизированное» антитело.

«Деиммунизированное» антитело к SIRPα представляет собой антитело, полученное из гуманизированного или химерного антитела к SIRPα, которое имеет одно или более изменений в его аминокислотной последовательности, приводящих к снижению иммуногенности антитела по сравнению с соответствующим исходным недеиммунизированным антителом. Одна из процедур создания таких мутантов антител включает идентификацию и удаление Т-клеточных эпитопов молекулы антитела. На первом этапе иммуногенность молекулы антитела может быть определена несколькими способами, например, путем определения Т-клеточных эпитопов in vitro или предсказания таких эпитопов in silico, как известно в данной области. После идентификации критических остатков для функции Т-клеточного эпитопа можно произвести мутации для удаления иммуногенности и сохранения активности антител. Для обзора, *см.*, например, Jones et al., 2009, Methods in Molecular Biology 525:405-23.

4.3.2.1 Созревание аффинности in vitro

[00455] В некоторых вариантах осуществления, варианты антител, имеющие улучшенные свойства, такие как аффинность, стабильность или уровень экспрессии, по сравнению с родительским антителом, можно готовить посредством in vitro созревания аффинности. Как и в случае природного прототипа, in vitro созревание аффинности основано на принципах мутации и отбора. Библиотеки антител представляют в виде фрагментов Fab, scFv или V-домена на поверхности организма (*например*, клетки фага, бактерий, дрожжей или млекопитающего) или в ассоциации (*например*, ковалентной или нековалентной) с кодирующей мРНК или ДНК. Аффинный отбор представленных антител позволяет выделить организмы или комплексы, несущие генетическую информацию, кодирующую антитела. Два или три раунда мутаций и отбора с использованием методов дисплея, таких как фаговый дисплей, обычно приводят к получению фрагментов антител с аффинностью в нижнем наномолярном диапазоне. Антитела с созревшей аффинностью могут иметь наномолярные или даже пикомолярные аффинности к целевому антигену.

[00456] Фаговый дисплей является широко распространенным методом для представления и отбора антител. Антитела представляют на поверхности бактериофагов Fd или M13 в слитом с белком оболочки бактериофага виде. Отбор включает контакт с антигеном для того, чтобы обеспечить возможность связывания представленных на фаге антител с их мишенями, что называется «пэннингом». Проводят выделение связанных с антигеном фагов и используют их, чтобы инфицировать бактерии для получения фагов для последующих раундов отбора. Обзор *смотрите*, например, в Hoogenboom, 2002, Methods. Mol. Biol. 178:1-37; и Bradbury and Marks, 2004, J. Immunol. Methods 290:29-49.

[00457] В системе дрожжевого дисплея (*смотрите, например*, Boder et al., 1997, Nat. Biotech. 15:553-57; и Chao et al., 2006, Nat. Protocols 1:755-68), антитело может быть представлено в виде одноцепочечных вариабельных слияний (scFv), в которых тяжелая и легкая цепи соединены гибким линкером. scFv слит с адгезионной субъединицей белка дрожжевого агглютинина Aga2p, который присоединяется к стенке дрожжевой клетки посредством дисульфидных связей с Aga1p. Представление белка посредством Aga2p

приводит к отдалению белка от клеточной поверхности, минимизируя потенциальные взаимодействия с другими молекулами стенки дрожжевой клетки. Для скрининга библиотеки используют магнитное разделение и проточную цитометрию, чтобы провести отбор антител с улучшенной аффинностью или стабильностью. Связывание с представляющим интерес растворимым антигеном определяют путем мечения дрожжей биотинилированным антигеном и вторичным реагентом, таким как стрептавидин, конъюгированный с флуорофором. Вариации в поверхностной экспрессии антитела можно определить посредством иммунофлуоресцентного мечения гемагглютининовой или c-Myc-эпитопной меткой, фланкирующей scFv. Было показано, что экспрессия коррелирует со стабильностью представляемого белка и, таким образом, можно проводить отбор антител в отношении улучшенной стабильности, а также аффинности (*смотрите, например*, Shusta et al., 1999, J. Mol. Biol. 292:949-56). Дополнительным преимуществом дрожжевого дисплея является то, что сворачивание представляемых белков происходит в эндоплазматическом ретикулуме эукариотических дрожжевых клеток, используя преимущество шаперонов и аппарата контроля качества эндоплазматического ретикулума. После завершения созревания аффинность антитела можно удобным образом «титровать» при представлении на поверхности дрожжей, устраняя необходимость экспрессии и выделения каждого клона. Теоретическим ограничением дисплея на дрожжевой поверхности является потенциально меньший размер библиотеки, чем в других методах дисплея; однако в недавно разработанном подходе используется система скрещивания дрожжевых клеток для создания комбинаторного разнообразия, которое по оценкам имеет размер 10^{14} (*смотрите*, *например*, публикацию патента США 2003/0186374; и Blaise et al., 2004, Gene 342:211-18).

[00458] В рибосомном дисплее создают комплексы антитело-рибосома-мРНК (ARM) для проведения отбора в бесклеточной системе. Библиотеку ДНК, кодирующую конкретную библиотеку антител, генетически сливают со спейсерной последовательностью, в которой отсутствует стоп-кодон. При трансляции эта спейсерная последовательность остается присоединенной к пептидильной тРНК и занимает рибосомальный туннель, позволяя, таким образом, представляющему интерес белку выступать за пределы рибосомы и сворачиваться. Получаемый в результате комплекс мРНК, рибосомы и белка может связываться со связанным с поверхностью лигандом, что позволяет проводить одновременное выделение антитела и кодирующей его мРНК посредством аффинного захвата лигандом. Затем проводят обратную транскрипцию связанной с рибосомой мРНК в кДНК, которую затем можно подвергнуть мутагенезу и использовать в следующем раунде отбора (*смотрите, например*, Fukuda et al., 2006, Nucleic Acids Res. 34:e127). В мРНК-дисплее создают ковалентную связь между антителом и мРНК, используя пуромицин в качестве адапторной молекулы (Wilson et al., 2001, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:3750-55).

[00459] Так как все эти методы осуществляют полностью in vitro, они обеспечивают два основных преимущества по сравнению с другими технологиями. Во-

первых, разнообразие библиотеки не ограничено эффективностью трансформации бактериальных клеток, а только числом рибосом и разных молекул мРНК, присутствующих в пробирке для исследования. Во-вторых, после каждого раунда отбора легко можно вводить случайные мутации, например, посредством некорректирующих полимераз, так как после любого этапа расширения разнообразия не нужно проводить трансформацию библиотеки.

[00460] В системе дисплея на клетках млекопитающих (*смотрите, например*, Bowers et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA. 108:20455-60), конструируют полностью человеческую библиотеку IgG на основании последовательностей V-генных сегментов человеческой зародышевой линии, соединенных с предварительно рекомбинированными D(J)-областями. Проводят сборку полноразмерных V-областей для тяжелой и легкой цепи с человеческими константными областями тяжелой цепи и легкой цепи и трансфицируют в линию клеток млекопитающего (*например*, HEK293). Трансфицированную библиотеку расширяют и подвергают нескольким раундам отрицательного отбора против связанных со стрептавидином (SA) магнитных гранул с последующим раундом положительного отбора против SA-связанных магнитных гранул, покрытых биотинилированным целевым белком, пептидным фрагментом или эпитопом. Прошедшие положительный отбор клетки размножают и затем сортируют с помощью раундов FACS для выделения одноклеточных клонов, представляющих антитела, которые специфически связываются с целевым белком, пептидным фрагментом или эпитопом. Пары тяжелой и легкой цепей из этих одноклеточных клонов повторно трансфицируют AID для дополнительного созревания. Несколько раундов дисплея на клетках млекопитающих в сочетании с инициируемой AID соматической гипермутацией позволяют создавать высокоспецифические, высокоаффинные антитела.

[00461] Разнообразие можно вносить в CDR или полные V-гены библиотек антител нацеленным образом или путем случайного внесения. Первый подход включает последовательное нацеливание на все CDR антитела посредством мутагенеза на высоком или низком уровне или нацеливание на выделенные горячие точки соматических гипермутаций (*смотрите, например*, Ho et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:607-17) или остатки, которые предположительно влияют на аффинность на основании экспериментальных данных или по структурным причинам. В конкретном варианте осуществления соматическую гипермутацию осуществляют посредством инициируемой AID соматической гипермутации, *например*, используя платформу SHM-XEL™ (AnaptysBio, San Diego, CA). Случайные мутации можно вводить по всему V-гену, используя мутирующие штаммы E. coli, репликацию с внесением ошибок с ДНК-полимеразами (*смотрите, например*, Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol. 226:889-96) или РНК-репликазами. Разнообразие также можно вносить путем замещения областей, разнообразие которых обеспечивается естественным образом путем перетасовки ДНК, или аналогичными методами (*смотрите, например*, Lu et al., 2003, J. Biol. Chem. 278:43496-507; патенты США № 5565332 и 6989250). В альтернативных методах,

нацеленных на гипервариабельные петли с продлением на остатки каркасных областей (*смотрите, например*, Bond et al., 2005, J. Mol. Biol. 348:699-709), используют удаления петель и вставки в CDR или применяют внесение разнообразия на основе гибридизации (*смотрите, например*, публикацию патента США № 2004/0005709). Дополнительные методы создания разнообразия в CDR описаны, например, в патенте США № 7985840. Дополнительные способы, которые можно использовать для создания библиотек антител и/или созревания аффинности антител, описаны, *например,* в патентах США №№ 8 685 897 и 8 603 930, и публикациях США №№ 2014/0170705, 2014/0094392, 2012/0028301, 2011/0183855 и 2009/0075378, которые все включены в данный документ посредством ссылки.

[00462] Скрининг библиотек можно проводить различными методами, известными в данной области техники. Например, SIRPα можно иммобилизовать на твердых подложках, колонках, шпильках или целлюлозных/поли(винилиденфторидных) мембранах/других фильтрах, экспрессировать на клетках-хозяевах, прикрепленных к адсорбционным планшетам, или использовать в сортировке клеток, или конъюгировать с биотином для захвата на покрытых стрептавидином гранулах, или использовать в любом другом способе для пэннинга дисплейных библиотек.

[00463] Обзор методов in vitro созревания аффинности *смотрите*, *например*, в Hoogenboom, 2005, Nature Biotechnology 23:1105-16; Quiroz and Sinclair, 2010, Revista Ingeneria Biomedia 4:39-51; и приведенных в них ссылках.

4.3.2.2 Модификации антител к SIRPα

[00464] Ковалентные модификации антител к SIRPα включены в объем настоящего изобретения. Ковалентные модификации включают проведение реакции целевых аминокислотных остатков антитела к SIRPα с органическим дериватизирующим агентом, который способен реагировать с выбранными боковыми цепями или N- или C-концевыми остатками антитела к SIRPα. Другие модификации включают деамидирование остатков глутаминила и аспарагинила до соответствующих остатков глутамила и аспартила, соответственно, гидроксилирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп остатков серила и треонила, метилирование α-аминогрупп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина (*смотрите, например*, Creighton, Proteins: Structure и Molecular Properties 79-86 (1983)), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

[00465] Другие типы ковалентной модификации антитела к SIRPα, включенные в объем настоящего изобретения, включают изменение нативного профиля гликозилирования антитела или полипептида (*смотрите, например*, Beck et al., 2008, Curr. Pharm. Biotechnol. 9:482-501; и Walsh, 2010, Drug Discov. Today 15:773-80) и связывание антитела с одним из множества небелковых полимеров, *например*, полиэтиленгликолем (ПЭГ), полипропиленгликолем или полиоксиалкиленами способом, приведенным, например, в патентах США 4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192 или 4179337.

[00466] Антитело к SIRPα по настоящему изобретению также можно

модифицировать с образованием химерных молекул антитела к SIRPα, слитых с другим, гетерологичным полипептидом или аминокислотной последовательностью, например, эпитопной меткой (*смотрите, например*, Terpe, 2003, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60:523-33) или Fc-областью молекулы IgG (*смотрите, например*, Aruffo, Antibody Fusion Proteins 221-42 (Chamow and Ashkenazi eds., 1999)).

[00467] Также в данном документе предложены слитые белки, содержащие антитело, предложенного в данном документе, которое связывается с антигеном SIRPα, и гетерологичный полипептид. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид, с которым слито антитело, применим для нацеливания антитела на клетки, имеющие экспрессируемый на клеточной поверхности SIRPα.

[00468] Также в данном документе предложены панели антител, которые связываются с антигеном SIRPα. В конкретных вариантах осуществления панели антител имеют разные скорости ассоциации, разные скорости диссоциации, разную аффинность в отношении SIRPα и/или разную специфичность в отношении антигена SIRPα. В некоторых вариантах осуществления указанные панели содержат или состоят из около 10, около 25, около 50, около 75, около 100, около 125, около 150, около 175, около 200, около 250, около 300, около 350, около 400, около 450, около 500, около 550, около 600, около 650, около 700, около 750, около 800, около 850, около 900, около 950 или около 1000 антител или более. Панели антител можно использовать, например, в 96-луночных или 384-луночных планшетах для такого анализа, как ИФА.

4.3.3 **Получение антител к SIRPα**

[00469] Антитела к SIRPα можно получать, культивируя клетки, трансформированные или трансфицированные вектором, содержащим кодирующие антитело к SIRPα нуклеиновые кислоты. Полинуклеотидные последовательности, кодирующие полипептидные компоненты антитела по настоящему изобретению, можно получать, используя стандартные рекомбинантные технологии. Необходимые полинуклеотидные последовательности можно выделять и секвенировать из вырабатывающих антитела клеток, таких как клетки гибридомы. В альтернативном варианте полинуклеотиды можно синтезировать, используя синтезатор нуклеотидов или технологии ПЦР. После получения последовательности, кодирующие полипептиды, вставляют в рекомбинантный вектор, способный к репликации и экспрессии гетерологичных полинуклеотидов в клетках-хозяевах. Многие векторы, которые известны в данной области техники, можно использовать в целях настоящего изобретения. Выбор подходящего вектора будет зависеть главным образом от размера нуклеиновых кислот, подлежащих вставке в вектор, и конкретной клетки-хозяина, подлежащей трансформации вектором. Клетки-хозяева, подходящие для экспрессии антител по настоящему изобретению, включают прокариотов, таких как архебактерии и эубактерии, включая грамотрицательные или грамположительные организмы, эукариотических микробов, таких как нитевидные грибы или дрожжи, клетки беспозвоночных, такие как клетки насекомых или растений, и клетки позвоночных, такие как линии клеток-хозяев

млекопитающих. Клетки-хозяев трансформируют вышеописанными экспрессионными векторами и культивируют в традиционных питательных средах, модифицированных при необходимости для индукции промоторов, отбора трансформантов или амплификации генов, кодирующих необходимые последовательности. Антитела, вырабатываемые клетками-хозяевами, очищают, используя стандартные способы очистки белка, известные в данной области техники.

[00470] Способы получения антител, включая конструирование векторов, экспрессию и очистку, дополнительно описаны в Plückthun et al., Antibody Engineering: Producing antibodies in Escherichia coli: From PCR to fermentation 203-52 (McCafferty et al. eds., 1996); Kwong and Rader, E. coli Expression and Purification of Fab Antibody Fragments, *в* Current Protocols in Protein Science (2009); Tachibana and Takekoshi, Production of Antibody Fab Fragments in Escherischia coli, *в* Antibody Expression and Production (Al-Rubeai ed., 2011) и Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed., 2009).

[00471] Естественно, предусматривается, что для получения антител к SIRPα можно применять альтернативные способы, которые хорошо известны в данной области техники. Например, подходящую аминокислотную последовательность или ее части можно получить прямым пептидным синтезом, используя твердофазные методики (*смотрите, например*, Stewart et al., Solid-Phase Peptide Synthesis (1969); и Merrifield, 1963, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-54). In vitro белковый синтез можно осуществлять, используя ручные методики или автоматизированные. Различные части антитела к SIRPα можно по отдельности синтезировать химически и комбинировать, используя химические или ферментативные способы, для получения необходимого антитела к SIRPα. В альтернативном варианте антитела можно очищать из клеток или жидкостей организма, таких как молоко, трансгенного животного, созданного для экспрессии антитела, как описано, например, в патентах США 5545807 и 5827690.

4.3.4 **Иммуноконъюгаты**

[00472] В настоящем изобретении также предложены конъюгаты, содержащие любое из антител к SIRPα по настоящему изобретению, ковалентно связанное посредством синтетического линкера с одним или более агентами, не являющимися антителами.

[00473] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, конъюгированы или рекомбинантно слиты, *например*, с выявляемой молекулой.

[00474] Такое выявление можно осуществлять, например, путем сопряжения антитела с выявляемыми веществами, включая, но не ограничиваясь этим, различные ферменты, такие как, но не ограничиваясь этим, пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза или ацетилхолинэстераза; простетические группы, такие как, но не ограничиваясь этим, стрептавидин/биотин или авидин/биотин; флуоресцентные материалы, такие как, но не ограничиваясь этим, умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансил хлорид

или фикоэритрин; люминесцентные материалы, такие как, но не ограничиваясь этим, люминол; биолюминесцентные материалы, такие как, но не ограничиваясь этим, люцифераза, люциферин или экворин; хемилюминесцентные материалы, такие как, но не ограничиваясь этим, соединения на основе акридиния или HALOTAG; радиоактивные материалы, такие как, но не ограничиваясь этим, йод (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I и ^{121}I,), углерод (^{14}C), сера (^{35}S), тритий (^{3}H), индий (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In и ^{111}In), технеций (^{99}Tc), таллий (^{201}Ti), галлий (^{68}Ga и ^{67}Ga), палладий (^{103}Pd), молибден (^{99}Mo), ксенон (^{133}Xe), фтор (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{113}Sn или ^{117}Sn; позитронно-активные металлы с применением различных видов позитронно-эмиссионной томографии; и нерадиоактивные парамагнитные ионы металлов.

[00475] Также в данном документе предложены антитела, которые рекомбинантно слиты или химически конъюгированы (ковалентные или нековалентные конъюгации) с гетерологичным белком или полипептидом (или его фрагментом, например, с полипептидом из около 10, около 20, около 30, около 40, около 50, около 60, около 70, около 80, около 90 или около 100 аминокислот), для создания слитых белков, а также варианты их применения. В частности, в данном документе предложены слитые белки, содержащие антигенсвязывающий фрагмент антитела, предложенного в данном документе (*например*, фрагмент Fab, фрагмент Fc, фрагмент Fv, фрагмент $F(ab)_2$, домен VH, VH CDR, домен VL или VL CDR), и гетерологичный белок, полипептид или пептид. В одном варианте осуществления гетерологичный белок, полипептид или пептид, с которым слито антитело, применяют для нацеливания антитела на конкретный тип клеток, такой как клетки, которые экспрессируют SIRPα. Например, антитело, которое связывается с рецептором клеточной поверхности, экспрессируемым конкретным типом клеток, сливают или конъюгируют с модифицированным антителом, предложенным в данном документе.

[00476] Кроме того, антитела, предложенные в данном документе, также можно сливать с последовательностями маркера или «метки», таким как пептид, для облегчения очистки. В конкретных вариантах осуществления аминокислотная последовательность маркера или метки представляет собой гекса-гистидиновый пептид, например, метку, предоставляемую в векторе pQE (*смотрите, например*, QIAGEN, Inc.), помимо прочих, многие из которых являются коммерчески доступными. Например, как описано в Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-24, гекса-гистидин обеспечивает удобную очистку слитого белка. Другие пептидные метки, применимые для очистки, включают, но не ограничиваются этим, гемагглютининовую («HA») метку, которая соответствует эпитопу, полученному из белка гемагглютинина гриппа (Wilson et al., 1984, Cell 37:767-78), и метку «FLAG».

[00477] Способы слияния или конъюгации компонентов (включая полипептиды) с антителами являются известными (*смотрите*, *например*, Arnon et al., Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies and

Cancer Therapy 243-56 (Reisfeld et al. eds., 1985); Hellstrom et al., Antibodies for Drug Delivery, in Controlled Drug Delivery 623-53 (Robinson et al. eds., 2d ed. 1987); Thorpe, Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review, in Monoclonal Antibodies: Biological and Clinical Applications 475-506 (Pinchera et al. eds., 1985); Analysis, Results, and Future Prospective of therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy 303-16 (Baldwin et al. eds., 1985); Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58; патенты США № 5336603; 5622929; 5359046; 5349053; 5447851; 5723125; 5783181; 5908626; 5844095 и 5112946; EP 307434; EP 367166; EP 394827; публикациях PCT WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631 и WO 99/04813; Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-39; Traunecker et al., 1988, Nature, 331:84-86; Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154:5590-600; и Vil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-41).

[00478] Слитые белки можно создавать, например, с помощью технологии перетасовки генов, перетасовки мотивов, перетасовки экзонов и/или перетасовки кодонов (что вместе называется «перетасовкой ДНК»). Перетасовку ДНК можно применять, например, для изменения активности антител к SIRPα, предложенных в данном документе, включая, например, антитела с более высокой аффинностью или меньшей скоростью диссоциации (*смотрите, например*, 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):308-13). Антитела или кодируемые антитела можно изменять, подвергая случайному мутагенезу с помощью ПЦР с внесением ошибок, вставке случайного нуклеотида или другим способам, перед рекомбинацией. Полинуклеотид, кодирующий антитело, предложенное в данном документе, можно рекомбинировать с одним или более компонентами, мотивами, участками, частями, доменами, фрагментами и *т. д.* одной или более гетерологичных молекул.

[00479] Антитело, предложенное в данном документе, также можно конъюгировать со вторым антителом для образования гетероконъюгата антител, как описано, например, в патенте США № 4676980.

[00480] Предложенные в данном документе антитела, которые связываются с SIRPα, также можно присоединять к твердым подложкам, что в особенности применимо для иммуноанализа или очистки целевого антигена. Такие твердые подложки включают, но не ограничиваются этим, стекло, целлюлозу, полиакриламид, нейлон, полистирол, поливинилхлорид или полипропилен.

[00481] Линкер может быть «отщепляемым линкером», облегчая высвобождение конъюгированного агента в клетке, но неотщепляемые линкеры также предусмотрены в данном документе. Линкеры для применения в конъюгатах по настоящему изобретению включают, без ограничения, кислотолабильные линкеры (*например*, гидразоновые линкеры), дисульфид-содержащие линкеры, пептидазо-чувствительные линкеры (*например*, пептидные линкеры, содержащие аминокислоты, например, валин и/или

цитруллин, такие как цитруллин-валин или фенилаланин-лизин), фотолабильные линкеры, диметильные линкеры (*смотрите, например*, Chari et al., 1992, Cancer Res. 52:127-31; и патент США № 5208020), тиоэфирные линкеры или гидрофильные линкеры, сконструированные для уклонения от опосредованной транспортерами множественной лекарственной устойчивости (*смотрите, например*, Kovtun et al., 2010, Cancer Res. 70:2528-37).

[00482] Конъюгаты антитела и агента можно создавать, используя ряд бифункциональных агентов для сопряжения белков, таких как BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC, сульфо-SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат). В настоящем изобретении также предусмотрено, что конъюгаты антител и агентов можно создавать, используя любые подходящие способы, описанные в данной области техники (*смотрите, например*, Bioconjugate Techniques (Hermanson ed., 2d ed. 2008)).

[00483] Традиционные стратегии конъюгации антител и агентов основаны на случайной конъюгации химических веществ с участием ε-аминогруппы остатков Lys или тиольной группы остатков Cys, что приводит к получению гетерогенных конъюгатов. Недавно разработанные технологии позволяют осуществлять сайт-специфическую конъюгацию антител, что приводит к получению однородной нагрузки и отсутствию субпопуляций конъюгатов с измененными связыванием антигена или фармакокинетикой. Это включает конструирование «thiomab», содержащих цистеиновые замены в позициях в тяжелой и легкой цепях, которые обеспечивают наличие реактивных тиольных групп и не нарушают сворачивание и сборку иммуноглобулина или не меняют связывание антигена (*смотрите, например*, Junutula et al., 2008, J. Immunol. Meth. 332: 41-52; и Junutula et al., 2008, Nature Biotechnol. 26:925-32). В другом способе в последовательность антитела котрансляционно вставляют селеноцистеин путем перекодировки стоп-кодона UGA от терминации до вставки селеноцистеина, что позволяет осуществлять сайт-специфическую ковалентную конъюгацию в нуклеофильной селенольной группе селеноцистеина в присутствии других природных аминокислот (*смотрите, например*, Hofer et al., 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:12451-56; и Hofer et al., 2009, Biochemistry 48(50):12047-57).

4.4 **Способы применения антител и композиций**

[00484] В настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза макрофагом, включающие контактирование макрофага с эффективным количеством антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, в результате чего фагоцитоз макрофагом усиливается по сравнению с фагоцитозом необработанным макрофагом или макрофагом, обработанным антителом изотипического контроля.

[00485] Также в настоящем документе предложены способы увеличения процентного содержания фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов, включающие контактирование макрофагов с эффективным количеством антитела или его

антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в данном документе, в результате чего процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается по сравнению с необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля.

[00486] Дополнительно в настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза раковых клеток популяцией макрофагов, включающие контактирование раковых клеток, макрофагов или как раковых клеток, так и макрофагов с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, в результате чего фагоцитоз раковых клеток популяцией макрофагов усиливается по сравнению с таковым для необработанных макрофагов или макрофагов, обработанных антителом изотипического контроля.

[00487] Как обсуждалось дополнительно выше, в конкретных вариантах осуществления различных способов, предложенных в данном документе, раковые клетки и/или макрофаги могут включать один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более, или все гаплотипы SIRPα, известные специалисту в данной области техники, например один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более, или все полиморфные формы SIRPα, описанные в Takenaka K, et al., Nat Immunol. 2007 Dec;8(12):1313-23.

[00488] В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают любой одним или любую комбинацию из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6 (SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV).

[00489] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают один полиморфизм SIRPα, выбранный из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00490] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают две или более полиморфные формы SIRPα, выбранные из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00491] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00492] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00493] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID

NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00494] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00495] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги, подходящие для способов, предложенных в настоящем документе, включают SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00496] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00497] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе,

раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00498] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00499] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00500] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00501] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или

макрофаги включают SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00502] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00503] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00504] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в

домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00505] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00506] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00507] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00508] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе,

раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления антитела к SIRPα или их фрагменты, предложенные в настоящем документе, специфически связываются с SIRPα человека (например, с любым одним или любой комбинацией из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6) и увеличивает фагоцитоз раковых клеток за счет совместного культивируемых макрофагов, при этом раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, раковые клетки и/или макрофаги включают SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00509] Дополнительно в настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза раковых клеток у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, в результате чего фагоцитоз раковых клеток у субъекта усиливается по сравнению с таковым у необработанного субъекта или у субъекта, обработанного антителом изотипического контроля.

[00510] В настоящем документе предложены способы увеличения элиминации раковых клеток путем фагоцитоза у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе.

[00511] В настоящем документе предложены способы нацеливания на раковые клетки для иммунодеплеции у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе.

[00512] В настоящем документе также предложены способы лечения рака у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе.

[00513] В конкретных вариантах осуществления различных способов, предложенных в данном документе, субъект имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более, или все гаплотипы SIRPα, известные специалисту в данной области техники, например один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более, или все полиморфные формы SIRPα, описанные в Takenaka K, et al., Nat Immunol. 2007 Dec;8(12):1313-23.

[00514] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет любой один или любую комбинацию из двух, трех, четырех, пяти или шести из SIRPα, выбранных из группы, состоящей из гаплотипов SIRPα v1, v2, v3, v4, v5 и v6 (SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащем SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV).

[00515] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет один полиморфизм SIRPα, выбранный из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00516] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет две или более полиморфных форм SIRPα, выбранных из группы, состоящей из SIRPα v1, содержащего SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащего SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащего SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащего SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащего SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащего SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00517] В конкретных вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV. В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В конкретных вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00518] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00519] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00520] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00521] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления

различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00522] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00523] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00524] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00525] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00526] В некоторых вариантах осуществления различных способов,

предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00527] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00528] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00529] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID

NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00530] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00531] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00532] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00533] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене

IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00534] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV. В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6, содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

[00535] Как обсуждалось выше, фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами или фагоцитоз раковых клеток макрофагами у субъекта можно определить как процентное содержание фагоцитотических макрофагов, а увеличение фагоцитоза раковых клеток за счет совместно культивируемых макрофагов или фагоцитоза раковых клеток макрофагами у субъекта можно определить как процентное или кратное увеличение фагоцитоза или как изменение процентного содержания фагоцитотических макрофагов. По существу, процентное содержание фагоцитотических макрофагов можно использовать в качестве измерения фагоцитоза макрофагами и/или фагоцитоза раковых клеток макрофагами in vitro или у субъекта. Процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов в

определенных вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, увеличивается на примерно 10%, примерно 15%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 55%, примерно 60%, примерно 65%, примерно 70%, примерно 75%, примерно 80%, примерно 85%, примерно 90%, примерно 95% или примерно 99%. В некоторых вариантах осуществления популяция представляет собой популяцию макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками или популяцию макрофагов у субъекта.

[00536] В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99%. В некоторых вариантах осуществления популяция представляет собой популяцию макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками или популяцию макрофагов у субъекта.

[00537] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, фагоцитоз макрофагами или фагоцитоз раковых клеток макрофагами увеличивается на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 55%, примерно 60%, примерно 65%, примерно 70%, примерно 75%, примерно 80%, примерно 85%, примерно 90%, примерно 95%, примерно 100%, примерно 125%, примерно 150%, примерно 175%, примерно 200%, примерно 250%, примерно 300%, примерно 400%, примерно 500%, примерно 600%, примерно 700%, примерно 800%, примерно 900% или примерно 1000% по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля. В других вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, фагоцитоз макрофагами или фагоцитоз раковых клеток макрофагами увеличивается на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 175%, по меньшей мере 200%, по меньшей мере 250%, по меньшей мере 300%, по меньшей мере 400%, по меньшей мере 500%, по меньшей мере 600%, по меньшей мере 700%, по меньшей мере 800%, по меньшей мере 900% или по меньшей мере 1000% по сравнению с фагоцитозом необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля. В некоторых вариантах осуществления популяция представляет собой популяцию макрофагов, совместно культивируемых с раковыми клетками или

популяцию макрофагов у субъекта.

[00538] Таким образом, в описании дополнительно предложено, что способы, предложенные в настоящем документе, могут быть использованы для увеличения фагоцитоза раковых клеток колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза или DLBCL, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В изобретении также предложено, что способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток из НХЛ, таких как DLBCL, фолликулярная лимфома, лимфома маргинальной зоны и лимфома из клеток мантии, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В изобретении дополнительно предложено, что предложенные в данном документе способы можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 1, фолликулярной лимфомы степени 2, фолликулярной лимфомы степени 3a, фолликулярной лимфомы степени 3b, рецидивирующей фолликулярной лимфомы (включая, *например, степени* 1, 2, 3a и 3b), рефрактерной фолликулярной лимфомы (включая, *например*, степени 1, 2, 3a и 3b), рецидивирующей DLBCL или рефрактерной DLBCL, при этом рак имеет клетки, экспрессирующие CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из колоректального рака. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из колоректального рака, при этом рак экспрессирует CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из плоскоклеточной карциномы головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, могут быть использованы для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из плоскоклеточной карциномы головы и шеи, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из острого миелоидного лейкоза. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из острого миелоидного лейкоза, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из DLBCL. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из DLBCL, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в

настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из лимфомы маргинальной зоны. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из лимфомы маргинальной зоны, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из лимфомы из клеток мантии. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из лимфомы из клеток мантии, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из НХЛ. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из НХЛ, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 1. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 1, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 2. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 2, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 3a. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 3a, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для

увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 3b. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из фолликулярной лимфомы степени 3b, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рецидивирующей фолликулярной лимфомы (включающей, *например* степени 1, 2, 3a и 3b). В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рецидивирующей фолликулярной лимфомы (включающей, *например* степени 1, 2, 3a и 3b) при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рефрактерной фолликулярной лимфомы (включающей, *например* степени 1, 2, 3a и 3b). В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рефрактерной фолликулярной лимфомы (включающей, *например* степени 1, 2, 3a и 3b) при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рецидивирующей DLBCL. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рецидивирующей DLBCL, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рефракторной DLBCL. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно использовать для увеличения фагоцитоза раковых клеток, происходящих из рефракторной DLBCL, при этом раковые клетки экспрессируют CD47, SIRPα или как CD47, так и SIRPα.

[00539] В некоторых вариантах осуществления фолликулярная лимфома может быть классифицирована в соответствии с классификацией Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (Nathwani BN, et al., Follicular lymphoma World Health Organization Classification of Tumours. Pathology & Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues Lyon: IARC Press; 162-167, Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds) (2001)). В некоторых вариантах осуществления трехступенчатая система (степени 1-3), принятая ВОЗ, основана на подсчете абсолютного количества центробластов в 10 неопластических фолликулах, выраженного в поле микроскопа с большим увеличением (h.p.f., англ.: high-power field) 0,159 мм^2. Фолликулярная лимфома степени 1 имеет 0-5 центробластов на

h.p.f., фолликулярная лимфома степени 2 имеет 6-15 центробластов на h.p.f. и фолликулярная лимфома степени 3 имеет >15 центробластов на h.p.f. Этот метод гистологической классификации может предсказать как общую выживаемость (ОВ), так и выживаемость, свободную от неудач лечения (ВСН) (*см., например*,Martin AR, et al., Blood. 85:3671-3678 (1995)). Кроме того, фолликулярную лимфому степени 3 можно подразделить по количеству центробластов. При фолликулярной лимфоме степени 3a имеется > 15 центробластов на h.p.f., но центроциты все еще присутствуют, тогда как фолликулярная лимфома степени 3b имеет сплошные слои центробластов без центроцитов.

[00540] В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, используют антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, в качестве монотерапии, например, в качестве единственного лекарственного средства в способах. В других вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент используют в комбинации со вторым лекарственным средством для элиминирования раковых клеток. В конкретных вариантах осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб или ритуксимаб. В одном варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой цетуксимаб. В другом варианте осуществления второе лекарственное средство представляет собой ритуксимаб.

[00541] В настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза раковых клеток у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, и антитела к EGFR, в результате чего фагоцитоз раковых клеток у субъекта усиливается по сравнению с таковым у необработанного субъекта или у субъекта, обработанного антителом изотипического контроля.

[00542] Дополнительно в настоящем документе предложены способы увеличения элиминации раковых клеток путем фагоцитоза у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к EGFR.

[00543] Кроме того, в настоящем документе предложены способы нацеливания на раковые клетки для иммунодеплеции у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к EGFR.

[00544] В настоящем документе также предложены способы лечения рака у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к EGFR.

[00545] В настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза макрофагом, включающие контактирование макрофага с эффективным количеством

антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к EGFR, в результате чего фагоцитоз макрофагом усиливается по сравнению с фагоцитозом необработанным макрофагом или макрофагом, обработанным антителом изотипического контроля.

[00546] Также в настоящем документе предложены способы увеличения процентного содержания фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов, включающие контактирование макрофагов с эффективным количеством антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к EGFR, в результате чего процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается по сравнению с необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля.

[00547] Дополнительно в настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза раковых клеток популяцией макрофагов, включающие контактирование раковых клеток, макрофагов или как раковых клеток, так и макрофагов с эффективным количеством антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к EGFR, в результате чего фагоцитоз раковых клеток популяцией макрофагов усиливается по сравнению с таковым для необработанных макрофагов или макрофагов, обработанных антителом изотипического контроля.

[00548] В некоторых вариантах осуществления антитела к EGFR включают антитело к EGFR, которое блокирует димеризацию EGFR, и антитело к EGFR, которое конкурирует за связывание лиганд-рецептор, блокируя лигандсвязывающий рецептор от доступа к лиганду. В некоторых вариантах осуществления антитело к EGFR выбрано из группы, состоящей из цетуксимаба, панитумумаба, нимотузумаба, залутумумаба, нецитумумаба и матузумаба, все из которых представляют собой антитела к EGFR, используемые или испытанные в терапии рака, хорошо известные специалисту в данной области техники. Другие терапевтические антитела к EGFR, которые можно использовать в способах, представленных в настоящем документе, описаны в Martinelli E et al., Clinical and Experimental Immunology, 158:1-9; Russell JS et al., Chemother Res Pract. 2012; 2012: 761518; Capdevila J et al., Cancer Treatment Reviews 2009; 35(4): 354-363, все из которых полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

[00549] В некоторых конкретных вариантах осуществления антитело к EGFR представляет собой цетуксимаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к EGFR представляет собой панитумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к EGFR представляет собой нимотузумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к EGFR представляет собой залутумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к EGFR представляет собой нецитумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к EGFR представляет собой матузумаб.

[00550] В настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза раковых клеток у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе,

и антитела к CD20, в результате чего фагоцитоз раковых клеток у субъекта усиливается по сравнению с таковым у необработанного субъекта или у субъекта, обработанного антителом изотипического контроля.

[00551] Дополнительно в настоящем документе предложены способы увеличения элиминации раковых клеток путем фагоцитоза у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к CD20.

[00552] Кроме того, в настоящем документе предложены способы нацеливания на раковые клетки для иммунодеплеции у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к CD20.

[00553] В настоящем документе также предложены способы лечения рака у субъекта, включающие введение эффективного количества антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к CD20.

[00554] В настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза макрофагом, включающие контактирование макрофага с эффективным количеством антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к CD20, в результате чего фагоцитоз макрофагом усиливается по сравнению с фагоцитозом необработанным макрофагом или макрофагом, обработанным антителом изотипического контроля.

[00555] Также в настоящем документе предложены способы увеличения процентного содержания фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов, включающие контактирование макрофагов с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к CD20, в результате чего процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается по сравнению с необработанными макрофагами или макрофагами, обработанными антителом изотипического контроля.

[00556] Дополнительно в настоящем документе предложены способы увеличения фагоцитоза раковых клеток популяцией макрофагов, включающие контактирование раковых клеток, макрофагов или как раковых клеток, так и макрофагов с эффективным количеством антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенных в настоящем документе, и антитела к CD20, в результате чего фагоцитоз раковых клеток популяцией макрофагов усиливается по сравнению с таковым для необработанных макрофагов или макрофагов, обработанных антителом изотипического контроля.

[00557] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 выбрано из группы, состоящей из ритуксимаба, окрелизумаба, обинутузумаба, офатумумаба, тозитумомаба, окаратузумаба, велтузумаба и ублитуксимаба. Другие терапевтические антитела к CD20, которые можно использовать в способах, представленных в настоящем документе, описаны в Alduaij W et al., Blood 117:2993-3001 (2011); Du, FH et al., Auto

Immun Highlights. 2017 Dec; 8(1): 12, оба из которых включены в настоящее описание посредством ссылки.

[00558] В некоторых конкретных вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой окрелизумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой обинутузумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой офатумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой тозитумомаба. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой окаратузумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой велтузумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой ублитуксимаб.

[00559] В определенных вариантах осуществления различных способов, предложенных в настоящем документе, субъект представляет собой млекопитающее. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой млекопитающее, выбранное из группы, состоящей из Caviinae (морская свинка), Sus (свиньи), Macaca Fascicularis (обезьяна, *например*, яванский макак), Hominoid apes (гиббоны, орангутанги, гориллы, шимпанзе и люди), Canis (собака), Rattus (крыса) и Mus musculus (мышь). В конкретном варианте осуществления субъект представляет собой человека.

[00560] В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, субъекту вводят эффективное количество антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A). Терапевтически или профилактически эффективное количество антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет от примерно 0,005 до примерно 1000 мг в день, от примерно 0,01 до примерно 500 мг в день, от примерно 0,01 до примерно 250 мг в день, от примерно 0,01 до примерно 100 мг в день, от примерно 0,1 до примерно 100 мг в день, от примерно 0,5 до примерно 100 мг в день, от примерно 1 до примерно 100 мг в день, от примерно 0,01 до примерно 50 мг в день, от примерно 0,1 до примерно 50 мг в день, от примерно 0,5 до примерно 50 мг в день, от примерно 1 до примерно 50 мг в день, от примерно 0,02 до примерно 25 мг в день или от примерно 0,05 до примерно 10 мг в день. В одном варианте осуществления рекомендуемая суточная доза вводится в виде разовой дозы один раз в день или в разделенных дозах в течение суток.

[00561] В некоторых вариантах осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A) составляет от примерно 0,001 до примерно 100 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 50 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 25 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 10 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 9 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 8 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 7 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 6 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 5 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 4 мг/кг/день, от примерно от 0,01 до примерно 3 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 2 мг/кг/день, от примерно 0,01 до примерно 1 мг/кг/день или от примерно 0,01 мг/кг/день до примерно 0,3

мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 100 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 95 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 90 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 85 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 80 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 75 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 70 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 65 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 60 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 55 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 50 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 45 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 40 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 35 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 30 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 25 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 20 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 15 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 10 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 5 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 3 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 1 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 0,5 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 0,3 мг/кг/день. В одном варианте осуществления количество антитела к SIRPα составляет 0,1 мг/кг/день.

[00562] Вводимая доза также может быть выражена в других единицах, отличных от мг/кг/сутки. Например, дозы для парентерального введения могут быть выражены в мг/м^2/день. Специалист в данной области техники легко определит, как преобразовать дозы из мг/кг/день в мг/м^2/день с учетом высоты или массы субъекта или их обоих (см. www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Например, доза 1 мг/кг/сутки для человека массой 65 кг приблизительно равна 38 мг/м^2/сутки.

[00563] В некоторых вариантах осуществления количество вводимого антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A) является достаточным для обеспечения концентрации антитела в плазме в равновесном состоянии в диапазоне от примерно 0,001 до примерно 500 мкМ, от примерно 0,002 до примерно 200 мкМ, от примерно 0,005 до примерно 100 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 50 мкМ, от примерно 1 до примерно 50 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 25 мкМ, от примерно 0,05 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,1 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,5 до примерно 20 мкМ или от примерно 1 до примерно 20 мкМ.

[00564] В других вариантах осуществления количество вводимого антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A) является достаточным для обеспечения концентрации антитела в плазме в равновесном состоянии в диапазоне от примерно 5 до примерно 100. нМ, от примерно 5 до примерно 50 нМ, от примерно 10 до примерно 100 нМ, от примерно 10 до примерно 50 нМ или от примерно 50 до примерно 100 нМ.

[00565] Используемый в данном документе термин «концентрация в плазме в равновесном состоянии» представляет собой концентрацию, достигаемую после периода введения антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе. После достижения равновесного состояния появляются небольшие пики и впадины на зависимой от времени кривой концентрации антитела в плазме.

[00566] В некоторых вариантах осуществления количество вводимого антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A) является достаточным для обеспечения максимальной концентрации в плазме (пиковая концентрация) антитела в диапазоне от примерно 0,001 до примерно 500 мкМ, от примерно 0,002 до примерно 200 мкМ, от примерно 0,005 до примерно 100 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 50 мкМ, от примерно 1 до примерно 50 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 25 мкМ, от примерно 0,05 до примерно 20 мкМ, от примерно От 0,1 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,5 до примерно 20 мкМ или от примерно 1 до примерно 20 мкМ.

[00567] В некоторых вариантах осуществления количество вводимого антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A) является достаточным для обеспечения минимальной концентрации в плазме (минимальной концентрации) антитела в диапазоне от примерно 0,001 до примерно 500 мкМ, от примерно 0,002 до примерно 200 мкМ, от примерно 0,005 до примерно 100 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 50 мкМ, от примерно 1 до примерно 50 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 25 мкМ, от примерно 0,01 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 20 мкМ, от примерно 0,02 до примерно 20 мкМ или от примерно 0,01 до примерно 20 мкМ.

[00568] В некоторых вариантах осуществления количество вводимого антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A) является достаточным для обеспечения площади под кривой (AUC) антитела в диапазоне от примерно 100 до примерно 100000 нг*час/мл, от примерно 1000 до примерно 50000 нг*час/мл, от примерно 5000 до примерно 25000 нг*час/мл или от примерно 5000 до примерно 10000 нг*час/мл.

[00569] Предоставленное в данном документе антитело к SIRPα или его антигенсвязывающий фрагмент (*например*, SIRPAB-11-K322A) можно вводить один раз в день (1 р/д) или разделить на несколько суточных доз, например, два раза в день (2 р/д), три раза в день (3 р/д) и четыре раза в день (4 р/д). К тому же, введение может быть непрерывным (*т. е.* ежедневным в течение нескольких дней подряд или каждый день),

периодическим, *например*, в циклах (*т. е.* включающих дни, недели или месяцы отдыха без лекарственного средства). Применяемый в данном документе термин «суточный» предназначен для обозначения того, что антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз или более одного раза каждый день, например, в течение некоторого периода времени. Термин «непрерывный» означает, что антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят ежедневно в течение непрерывного периода, составляющего по меньшей мере от 10 дней до 52 недель. Термин «периодический» или «периодически», применяемый в данном документе, означает прекращение и начало с регулярными или нерегулярными интервалами. Например, периодическое введение антитела к SIRPα, предложенного в данном документе, представляет собой введение в течение от одного до шести дней в неделю, введение в циклах (*например*, ежедневное введение в течение от двух до восьми последовательных недель, после чего период отдыха без введения в течение до одной недели) или введение через день. Термин «циклически повторяющийся», применяемый в данном документе, означает, что антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят ежедневно или непрерывно, но с периодом отдыха.

[00570] В некоторых вариантах осуществления частота введения антитела к SIRPα, предложенного в данном документе (*например*, SIRPAB-11-K322A) находится в диапазоне от примерно суточной дозы до примерно ежемесячной дозы. В конкретных вариантах осуществления, введение осуществляют раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, четыре раза в сутки, один раз в сутки, два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в день. В другом варианте осуществления, антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят два раза в день. В еще одном варианте осуществления, антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят три раза в день. В еще одном варианте осуществления, антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят четыре раза в день.

[00571] В некоторых вариантах осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, (*например,* SIRPAB-11-K322A) вводят один раз в день от одного дня до шести месяцев, от одной недели до трех месяцев, от одной недели до четырех недель, от одной недели до трех недель или от одной недели до двух недель. В конкретных вариантах осуществления, антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в день в течение одной недели, двух недель, трех недель или четырех недель. В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в день в течение одной недели. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в день в течение двух недель. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в день в течение трех недель. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном

документе, вводят один раз в день в течение четырех недель. В определенных вариантах осуществления дозу вводят один раз в неделю.

[00572] В некоторых вариантах осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, SIRPAB-11-K322A) составляет от примерно 0,001 до примерно 50 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 50 мг/кг, от примерно от 0,01 до примерно 25 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 10 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 9 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 8 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 7 мг/кг, от примерно от 0,01 до примерно 6 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 5 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 4 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 3 мг/кг, от примерно 0,01 до примерно 2 мг/кг или от примерно 0,01 до примерно 1 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет примерно 0,001, примерно 0,003, примерно 0,005, примерно 0,01, примерно 0,03, примерно 0,05, примерно 0,1, примерно 0,3, примерно 0,5, примерно 1, примерно 3, примерно 5, примерно 10, примерно 30 или примерно 50 мг/кг. В одном варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 0,001 мг/кг. В одном варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 0,01 мг/кг. В одном варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 0,1 мг/кг. В другом варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 0,3 мг/кг. В другом варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 0,5 мг/кг. В еще одном варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 1 мг/кг. В еще другом варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 3 мг/кг. В одном варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 5 мг/кг. В другом варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 10 мг/кг. В еще одном варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 30 мг/кг. В еще одном варианте осуществления эффективность антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 50 мг/кг. В определенных вариантах осуществления антитело вводят один раз в сутки. В определенных вариантах осуществления антитело вводят один раз в неделю. В определенных вариантах осуществления антитело вводят один раз в месяц.

[00573] В некоторых вариантах осуществления эффективное количество антитела к SIRPα или его антигенсвязывающего фрагмента, представленного в настоящем документе, представляет собой 25 мг, 30 мг, 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 90 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг, 800 мг, 850 мг, 900 мг, 950 мг, 1000 мг, 1050 мг, 1100 мг, 1150 мг, 1200 мг, 1250 мг, 1300 мг, 1350 мг, 1400 мг, 1450 мг, 1500 мг, 1550 мг, 1600 мг, 1650 мг, 1700 мг, 1750 мг,

1800 мг, 1850 мг, 1900 мг, 1950 мг, 2000 мг, 2100 мг, 2200 мг, 2300 мг, 2400 мг, 2500 мг, 2600 мг, 2700 мг, 2800 мг, 2900 мг, 3000 мг, 3100 мг, 3200 мг, 3300 мг, 3400 мг, 3500 мг, 3600 мг, 3700 мг, 3800 мг, 3900 мг или 4000 мг на дозу. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество, описанное в данном параграфе, может быть введено в любой комбинации или перестановке с любой частотой дозировки, как описано в данном документе, например, один раз в день, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели или один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество, описанное в данном параграфе, может быть скомбинировано в любой комбинации или перестановке с любой частотой дозировки, как описано в данном документе, например, один раз в день, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели или один раз в месяц для любой продолжительности, как описано в данном документе, например, одной недели, двух недель, трех недель, сетырех недель, одного месяца, двух месяцев, трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти месяцев, одиннадцати месяцев, одного года, одного с половиной года, даух лет, двух с половиной лет или трех лет.

[00574] В некоторых вариантах осуществления частота введения антитела к SIRPα, представленного в настоящем документе (*например*, SIRPAB-11-K322A), может составлять один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели или один раз каждые четыре недели. В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в неделю. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые две недели. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые три недели. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые четыре недели.

[00575] В одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе (*например*, SIRPAB-11-K322A), вводят один раз в неделю в дозе 0,1 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в неделю в дозе 0,3 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в неделю в дозе 0,5 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе вводят один раз в неделю в дозе 1 мг/кг. В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в неделю в дозе 3 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в неделю в дозе 5 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз в неделю в дозе 10 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе вводят один раз в неделю в дозе 30 мг/кг.

[00576] В одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в

настоящем документе (*например*, SIRPAB-11-K322A), вводят один раз каждые две недели в дозе 0,1 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые две недели в дозе 0,3 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые две недели в дозе 0,5 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе вводят один раз каждые две недели в дозе 1 мг/кг. В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые две недели в дозе 3 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые две недели в дозе 5 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые две недели в дозе 10 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе вводят один раз каждые две недели в дозе 30 мг/кг.

[00577] В одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе (*например*, SIRPAB-11-K322A), вводят один раз каждые три недели в дозе 0,1 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые три недели в дозе 0,3 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые три недели в дозе 0,5 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе вводят один раз каждые три недели в дозе 1 мг/кг. В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые три недели в дозе 3 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые три недели в дозе 5 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые три недели в дозе 10 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе вводят один раз каждые три недели в дозе 30 мг/кг.

[00578] В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, (*например,* SIRPAB-11-K322A) вводят один раз каждые четыре недели в дозе 0,1 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые четыре недели в дозе 0,3 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые четыре недели в дозе 0,5 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе вводят один раз каждые четыре недели в дозе 1 мг/кг. В одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые четыре недели в дозе 3 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые четыре недели в дозе 5 мг/кг. В еще одном варианте осуществления антитело к SIRPα, предложенное в данном документе, вводят один раз каждые четыре недели в дозе 10 мг/кг. В еще одном из вариантов осуществления антитело к SIRPα,

представленное в настоящем документе, вводят один раз каждые четыре недели в дозе 30 мг/кг.

[00579] В зависимости от заболевания, подлежащего лечению, и от состояния субъекта, антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе, (*например*, SIRPAB-11-K322A) можно вводить парентеральным способом (*например*, внутримышечным, интраперитонеальным, внутривенным, непрерывной внутривенной инфузией, интрацистернальной инъекцией или инфузией, подкожной инъекцией или с применением имплантата), посредством ингаляции, назальным, вагинальным, ректальным, сублингвальным или местным (*например*, трансдермальным или локальным) способом введения. В одном варианте осуществления способ введения является подкожным. В другом варианте осуществления способ введения является внутривенным. В еще одном варианте осуществления способ введения является внутримышечным. В еще одном варианте осуществления способ введения является внутрибрюшинным. В одном варианте осуществления способ введения представляет собой непрерывную внутривенную инфузию. В другом варианте осуществления способ введения представляет собой интрацистернальную инъекцию или инфузию. В еще одном варианте осуществления способ введения осуществляют с применением имплантата. В еще одном варианте осуществления способ введения представляет собой ингаляцию. В одном варианте осуществления способ введения является назальным. В другом варианте осуществления способ введения является ректальным. В еще одном варианте осуществления способ введения является сублингвальным. В еще одном варианте осуществления способ введения является трансдермальным. Любое антитело к SIRPα, представленное в настоящем документе, может быть представлено отдельно или вместе, в подходящей единице дозирования, с фармацевтически приемлемыми наполнителями, носителями, адъювантами и несущими средами, подходящими для каждого способа введения.

[00580] В некоторых вариантах осуществления различных способов, представленных в настоящем документе, способ дополнительно включают введение терапевтически эффективного количества второго активного агента или поддерживающей терапии. Вторые активные средства могут являться высокомолекулярными *(например*, белки) или низкомолекулярными *(например*, синтетические неорганические, металлоорганические или органические молекулы). В некоторых вариантах осуществления вторые активные средства представляют собой небольшие молекулы, которые могут облегчить неблагоприятные эффекты, связанные с введением антитела, представленного в настоящем документе. Однако, как и некоторые крупные молекулы, многие из них предположительно могут обеспечивать синергетический эффект при введении с (*например*, до, после или одновременно с ним) антителом, представленным в данном документе. Примеры вторых активных средств на основе малых молекул включают без ограничения противораковые средства, противовоспалительные агенты, иммунодепрессанты и стероиды. В одном варианте осуществления второе активное средство представляет собой антитело к EGFR. В конкретном варианте осуществления

второе активное средство представляет собой цетуксимаб. В одном варианте осуществления второе активное средство представляет собой антитело к CD20. В другом варианте осуществления второе активное средство представляет собой ритуксимаб.

4.5 **Фармацевтические композиции**

[00581] В одном аспекте в настоящем изобретении дополнительно предложены фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно антитело к SIRPα, предложенное в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит 1) антитело к SIRPα и 2) фармацевтически приемлемый носитель.

[00582] Фармацевтические композиции, содержащие антитело, готовят для хранения путем смешивания антитела, имеющего необходимую степень очистки, с необязательными физиологически приемлемыми носителями, наполнителями или стабилизаторами (*смотрите, например*, Remington, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1980)) в форме водных растворов или в лиофилизированной или других высушенных формах.

[00583] Антитела по настоящему изобретению можно готовить в виде составов в любой подходящей для доставки в целевую клетку/ткань форме, *например*, в виде микрокапсул или макроэмульсий (Remington, *выше*; Park et al., 2005, Molecules 10:146-61; Malik et al., 2007, Curr. Drug. Deliv. 4:141-51), в виде составов с замедленным высвобождением (Putney and Burke, 1998, Nature Biotechnol. 16:153-57) или в липосомах (Maclean et al., 1997, Int. J. Oncol. 11:325-32; Kontermann, 2006, Curr. Opin. Mol. Ther. 8:39-45).

[00584] Антитело, предложенное в данном документе, также может быть заключено в микрокапсуле, приготовленной, например, методами коацервации или полимеризации на границе фаз, например, микрокапсуле из гидроксиметилцеллюлозы или желатина и микрокапсуле из поли(метилметакрилата), соответственно, в коллоидных системах доставки лекарств (например, липосомах, альбуминовых микросферах, микроэмульсиях, наночастицах и нанокапсулах) или в макроэмульсиях. Такие методики описаны, например, в Remington, *выше*.

[00585] Известны различные композиции и системы доставки, которые можно использовать с антителом, которое связывается с SIRPα, включая, но не ограничиваясь этим, инкапсуляцию в липосомах, микрочастицах, микрокапсулах, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать антитело, опосредованный рецепторами эндоцитоз (*смотрите, например*, Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-32), конструирование нуклеиновых кислот в виде части ретровирусного или другого вектора и *т. д.* В другом варианте осуществления композиция может быть предоставлена в виде системы с контролируемым или замедленным высвобождением. В одном варианте осуществления для обеспечения контролируемого или замедленного высвобождения можно использовать насос (*смотрите, например*, Langer, *выше*; Sefton, 1987, Crit. Спр. Biomed. Eng. 14:201-40; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507-16; и Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:569-74).

В другом варианте осуществления можно использовать полимерные материалы для обеспечения контролируемого или замедленного высвобождения профилактического или лекарственного агента (*например*, антитела, которое связывается с SIRPα, описанного в данном документе) или композиции по изобретению (*смотрите*, *например*, Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., 1984); Ranger and Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61-126; Levy et al., 1985, Science 228:190-92; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351-56; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105-12; патенты США № 5679377; 5916597; 5912015; 5989463; и 5128326; публикации PCT № WO 99/15154 и WO 99/20253). Примеры полимеров, используемых в составах для замедленного высвобождения, включают, но не ограничиваются этим, поли-2-гидроксиэтилметакрилат, полиметилметакрилат, полиакриловую кислоту, сополимер этилена с винилацетатом, полиметакриловую кислоту, полигликолиды (PLG), полиангидриды, поли-N-винилпирролидон, поливиниловый спирт, полиакриламид, полиэтиленгликоль, полилактиды (PLA), сополимер лактида с гликолидом (PLGA) и сложные полиортоэфиры. В одном варианте осуществления полимер, используемый в составе для замедленного высвобождения, является инертным, не содержит щелочных примесей, стабильным при хранении, стерильным и биоразлагаемым.

[00586] В другом варианте осуществления систему для контролируемого или замедленного высвобождения можно размещать вблизи конкретной целевой ткани, например, носовых проходов или легких, что делает необходимым только часть системной дозы (*смотрите, например*, Goodson, Medical Applications of Controlled Release Vol. 2, 115-38 (1984)). Системы для контролируемого высвобождения обсуждаются, например, в Langer, 1990, Science 249:1527-33. Любой метод, известный специалисту в данной области техники, может быть использован для получения составов с замедленным высвобождением, содержащих одно или более антител, которые связываются с SIRPα, как описано в данном документе (*см., например*, патент США № 4526938, публикации PCT № WO 91/05548 и WO 96/20698, Ning et al., 1996, Radiotherapy & Oncology 39:179-89; Song et al., 1995, PDA J. of Pharma. Sci. & Tech. 50:372-97; Cleek et al., 1997, Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-54; и Lam et al., 1997, Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-60).

4.6 **Наборы**

[00587] В настоящем документе также предложены наборы, содержащие антитело (*например*, антитело к SIRPα), предложенное в настоящем документе, или композицию с ним (*например*, фармацевтическую композицию), упакованные в подходящий упаковочный материал. Набор необязательно содержит этикетку или упаковочный вкладыш, включающий описание компонентов или инструкции по применению in vitro, in vivo или ex vivo компонентов в нем.

[00588] Термин «упаковочный материал» относится к физической структуре, содержащей компоненты набора. Упаковочный материал может обеспечивать

стерильность компонентов и может быть изготовлен из материала, обычно используемого для таких целей (*например*, бумаги, гофрированного волокна, стекла, пластика, фольги, ампул, флаконов, тюбиков и *т. д.*).

[00589] Наборы, предложенные в данном документе, могут включать этикетки или вкладыши. Этикетки или вкладыши включают «печатные материалы», *например* бумагу или картон, отдельно или прикрепленные к компоненту, набору или упаковочному материалу (*например*, коробке) или прикрепленные, например, к ампуле, пробирке или флаконе, содержащим компонент набора. Этикетки или вкладыши могут дополнительно включать машиночитаемый носитель, такой как диск (*например*, жесткий диск, карта, диск памяти), оптический диск, такой как CD- или DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, магнитная лента или электрические носители данных, такие как RAM и ROM, или их гибриды, такие как магнитные/оптические носители данных, флэш-носители или карты памяти. Этикетки или вкладыши могут включать информацию, идентифицирующую информацию о производителе, номера партий, местонахождение производителя и дату.

[00590] Предложенные в данном документе наборы могут дополнительно включать другие компоненты. Каждый компонент набора может быть заключен в отдельный контейнер, и все различные контейнеры могут находится в одной упаковке. Наборы также могут быть разработаны для хранения в холодильнике. Кроме того, набор может быть разработан для содержания антител, предложенных в настоящем документе, или клеток, которые содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела, предложенные в настоящем документе. Клетки в наборе можно поддерживать в соответствующих условиях хранения до использования.

[00591] Если не указано иное, все употребляемые в настоящем документе технические и научные термины имеют то же значение, которое, как правило, подразумевается средним специалистом в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. Хотя при практической реализации или тестировании этого изобретения можно использовать способы и материалы, сходные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, в данном документе описаны подходящие способы и материалы.

[00592] Все заявки, публикации, патенты и другие ссылки, упоминания GenBank и упоминания ATCC, цитируемые в данном документе, в полном объеме включены посредством ссылки. В случае противоречия данное описание, включая определения, имеет приоритет.

[00593] В контексте данного документа формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно следует иное. Таким образом, например, ссылка на «пептидную последовательность» включает множество таких последовательностей и т. д.

[00594] В контексте данного документа числовые значения часто представлены в формате диапазонов по всему документу. Применение формата диапазонов предназначено исключительно для удобства и краткости, и его не следует воспринимать как негибкое

ограничение объема изобретения, если из контекста явно следует иное. Соответственно, применение диапазона однозначно включает все возможные поддиапазоны, все отдельные числовые значения в пределах диапазона и все числовые значения или числовые диапазоны, включая целые числа в пределах таких диапазонов и дробные значения величин или целых чисел в пределах диапазонов, если из контекста явно следует иное. Это толкование применимо вне зависимости от ширины диапазона и во всех случаях по всему тексту этого патентного документа. Таким образом, например, ссылка на диапазон 90-100% включает 91-99%, 92-98%, 93-95%, 91-98%, 91-97%, 91-96%, 91-95%, 91-- 94%, 91-93% и т. д. Ссылка на диапазон 90-100% также включает 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 95%, 97% *и т. д.*, а также 91,1%, 91,2%, 91,3%, 91,4%, 91,5% *и т. д.*, 92,1%, 92,2%, 92,3%, 92,4%, 92,5% *и т. д.*, и так далее.

[00595] Кроме того, ссылка на диапазон 1-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-110, 110-120, 120-130, 130-140, 140-150, 150-160, 160-170, 170-180, 180-190, 190-200, 200-225, 225-250 включает 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, *и т.д.* В дополнительном примере ссылка на диапазон 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500, 2500-5000, 5000-25000, 25000-50000 включает любое числовое значение или диапазон в пределах таких значений или включающий их, *например*, 25, 26, 27, 28, 29…250, 251, 252, 253, 254…500, 501, 502, 503, 504…, *и т.д.*

[00596] В контексте данного документа также описан ряд диапазонов. Применение ряда диапазонов включает комбинации верхнего и нижнего диапазонов в целях получения другого диапазона. Это толкование применимо вне зависимости от ширины диапазона и во всех случаях по всему тексту этого патентного документа. Таким образом, например, ссылка на ряд диапазонов, таких как 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-75, 75-100, 100-150, включает диапазоны, такие как 5-20, 5-30, 5-40, 5-50, 5-75, 5-100, 5-150 и 10-30, 10-40, 10-50, 10-75, 10-100, 10-150 и 20-40, 20-50, 20-75, 20-100, 20-150 и т. д.

[00597] В целях краткости в данном документе используются определенные аббревиатуры. Одним из примеров является однобуквенное обозначения для представления аминокислотных остатков. Аминокислоты и их соответствующие трехбуквенные и однобуквенные обозначения представлены следующим образом:

аланин	Ala	(A)
аргинин	Arg	(R)
аспарагин	Asn	(N)
аспарагиновая кислота	Асп	(D)
цистеин	Cys	(C)
глутаминовая кислота	Glu	(E)
глутамин	Gln	(Q)
глицин	Gly	(G)

гистидин	His	(H)
изолейцин	Ile	(I)
лейцин	Leu	(L)
лизин	Lys	(K)
метионин	Met	(M)
фенилаланин	Phe	(F)
пролин	Pro	(P)
серин	Ser	(S)
треонин	Thr	(T)
триптофан	Trp	(W)
тирозин	Tyr	(Y)
валин	Val	(V)

[00598] Аспекты изобретения и многочисленные варианты осуществления в целом описано в данном документе с помощью утвердительных формулировок. Аспекты изобретения также в частности включают варианты осуществления, в которых исключен конкретный объект, полностью или частично, такой как вещества или материалы, этапы и условия способа, протоколы, процедуры, методы оценки или анализа. Таким образом, даже несмотря на то, что изобретение в целом не описано в данном документе в терминах того, что изобретение не включает, те аспекты, которые явно не включены в различные варианты осуществления или описания изобретения, тем не менее, раскрыты в данном документе.

[00599] Был описан ряд вариантов осуществления. Тем не менее понятно, что можно осуществлять различные модификации, не выходя за рамки сути и объема изобретения. Соответственно, следующие примеры предназначены для иллюстрации, но не ограничения объема изобретения, описанного в формуле изобретения.

5. **ПРИМЕРЫ**

[00600] Примеры в этом разделе (*m. e.* разделе 5) предложены в качестве иллюстрации, но не в качестве ограничения.

5.1 **Пример 1. Создание антител к SIRPα**

5.1.1 **Создание антител к SIRPα**

[00601] Скрининг и обнаружение полностью человеческих иммуноглобулинов G (IgG) к SIRPα выполняли с использованием платформы дрожжевого дисплея (**Фиг.1**). Рекомбинантный внеклеточный домен (ВКД) SIRPα человека использовали в качестве приманки для выделения связывающих доменов из восьми библиотек, содержащих всего ~ 1010 полностью человеческих IgG, экспрессированных на дрожжевых клетках. Тяжелые цепи (HC) из результатов отбора дополнительно перетасовывали по отношению к девяти библиотекам легких цепей (LC) для дополнительного диверсификации. Последовательные раунды селективной сортировки дали более 1300 наивных изолятов для секвенирования и

были дополнительно отсортированы до 564 для анализа продукции, связывания и блокирования CD47. Тестирование выявило семь связывающих доменов наивных IgG для созревания аффинности; отобранные библиотеки определяющей комплементарность области тяжелой цепи (CDRH)1 и CDRH2 для каждой линии (каждая> 10^8) были спарены с соответствующими легкими цепями и подвергнуты скринингу на высокоаффинные связывающие вещества SIRPα человека и макака. Более 350 «потомков» от 6 родительских линий были секвенированы и получены для характеристики профилей связывания SIRPα, полиморфного покрытия и перекрестной реактивности. 24 лучших клона из шести линий были доставлены для внутренней характеристики, включая связывание с клетками, определение аффинности с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР), блокирование лигандов и функциональные анализы in vitro (*см.* схему процесса на **Фиг.1**).

[00602] Включение анализа иммуногенности EpiVax с весовой матрицей проявляемости полиспецифичности реагента (ПСР), как описано в Xu Y, et al., Protein Eng Des Sel. 2013 Oct;26(10):663-70 (которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки), SIRPAB-11 был идентифицирован как типичный клон антитела к SIRPα, обладающий значительной аффинностью к SIRPα и SIRPγ, клеточной активностью и предпочтительный профилем перекрестной реактивности с яванским макаком (описанный ниже). Этот клон был выбран для дальнейшего конструирования варианта Fc для оценки требований к эффекторной функции Fc и дополнительных испытаний in vitro и in vivo.

5.1.2 **Получение антител к SIRPα со значительным охватом гаплотипов SIRPα**

[00603] Анализ полиморфизма домена IgV SIRPα, особенно остатков, охватывающих связывающую поверхность CD47, выявил несколько гаплотипов, покрывающих > 95% полиморфизмов на связывающей поверхности CD47 в человеческой популяции (Takenaka K, et al., Nat Immunol. 2007 Dec;8(12):1313-23). В рамках скрининга наиболее распространенный гаплотип (SIRPα V1: DLN, **Фиг.2**) был использован для первого раунда скрининга с последующим созреванием аффинности с двумя верхними полиморфизмами (SIRPα V1: DLN и SIRPα V2: ESE, **Фиг.2**). В рамках оценки in vitro связывание $K_Д$ для каждого антитела проводили по шести верхним гаплотипам (**Фиг.2**), включая SIRPα v1, содержащий SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2, содержащий SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3, содержащий SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4, содержащий SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5, содержащий SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6 содержащий SEQ ID NO: 154 в домене IgV (см. измерения аффинности ниже). В результате SIRPAB-11 имеет профиль широкого охвата связывания > 95% полиморфизмов SIRPα на связывающей поверхности CD47 у человека.

5.1.3 **Получение вариантов антител к SIRPα**

[00604] Для последующих исследований антител была создана пара VH/VL антитела к SIRPα. Для получения антитела к SIRPα, VL сливали с константной областью каппа человека ДТ, VH сливали с Fc-областью IgG1 человека. Были получены антитело

IgG1 SIRPAB-11 (SIRPAB-11-IgG1 или SIRPAB-11) и модифицированные варианты Fc, такие как антитело IgG4PE (SIRPAB-11-4PE). SIRPAB-11-4PE было сконструировано так, чтобы иметь существенно сниженную Fc-опосредованную эффекторную функцию. Область CH γ4 содержит две нестандартные аминокислотные замены, S228P и L235E (системы нумерации EU, Kabat и Wu, J Immunol. 1991 Sep 1;147(5):1709-19; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed. 1991)). Серин 228, обычный тип аминокислоты в шарнирной области IgG4, был заменен на пролин, реже наблюдаемый тип аминокислоты в IgG4 и являющийся высококонсервативной аминокислотой в IgG1. Это изменение существенно снизило уровень «полуантител», которые обычно наблюдаются при получении антител подкласса IgG4. Лейцин 235, одну из критически важных аминокислот, вовлеченных во взаимодействия тяжелой цепи с Fcγ-рецепторами, заменили глутаминовой кислотой. Замена L235E существенно снизила взаимодействие цепи γ4 с FcγR, элиминируя АЗКЦ и опосредованную Fc-рецепторами элиминацию SIRPα-экспрессирующих нормальных клеток. Кроме того, природное отсутствие связывания комплемента тяжелой цепью γ4 обеспечивает молекуле SIRPAB-11-4PE отсутствие функции КЗЦ.

[00605] Создали два варианта, чтобы минимизировать аффинность связывания с C1q для снижения КЗЦ. Для создания SIRPAB-11-K322A лизин 322 заменили аланином в SIRPAB-11-IgG1. Сообщалось, что замена K322A подавляет связывание C1q в ритуксимабе, химерном антителе с Fc IgG1 человека (Idusogie et al., 2000, J. Immunol. 164(8):4178-84). SIRPAB-11-4P получали, преобразуя Fc-остов SIRPAB-11-IgG1 в Fc-остов IgG4 с заменой S228P. Замена S228P существенно снижает уровень полуантител, которые часто наблюдаются при получении антител подкласса IgG4. Сообщалось, что антитело IgG4 имеет ослабленную функцию АЗКЦ и КЗЦ (Overdijk et al., 2012, J. Immunol. 189(7):3430-38). SIRPAB-11-4PE получали, преобразуя Fc-остов SIRPAB-11-IgG1 в Fc-остов IgG4 с заменами S228P и L235E. Все изменения осуществляли в области CH без изменений в вариабельных областях. Аминокислотные последовательности легкой и тяжелой цепей SIRPAB-11-IgG1 обозначены как LC_SIRPAB-11-IgG1 и HC_SIRPAB-11-IgG1 соответственно. Два варианта тяжелой цепи включают HC_SIRPAB-11-IgG1-K322A и HC_SIRPAB-11-IgG4PE. Легкая цепь LC_SIRPAB-11-IgG1 спарена с тремя отдельными тяжелыми цепями для получения SIRPAB-11-IgG1 (SEQ ID NO:142), SIRPAB-11-K322A (SEQ ID NO:119) и SIRPAB-11-4PE (SEQ ID NO:120), соответственно. Аналогичным образом были получены другие антитела и варианты, такие как тяжелые цепи SIRPAB-11-4P (SEQ ID NO:112), SIRPAB-11-AAS (SEQ ID NO:98), SIRPAB-12 (SEQ ID NO:204) и соответствующие варианты SIRPAB-12.

[00606] Все варианты SIRPAB-11 были получены стандартным методом мутагенеза (*например*, сайт-направленным мутагенезом) или путем слияния VH с вариантом Fc IgG человека. Например, тяжелая цепь SIRPAB-11-K322A была также получена путем слияния VH с Fc IgG1 человека с аминокислотной заменой лизина на аланин в положении 322 (SEQ ID NO: 119, имеющая мутацию K322A, системы нумерации EU; Kabat, et al., J

Immunol. 1991 Sep 1;147(5):1709-19).

5.1.4 **Получение антител к SIRPα мыши**

[00607] Антитела к SIRPα, полученные в вышеописанной кампании с использованием рекомбинантного SIRPα человека в качестве антигена, не связывались с SIRPα грызуна (*например*, мыши) (**Фиг. 3**). Поэтому была проведена кампания по выявлению антител к C57/BL6 ДТ или SIRPα NOD-SCID. Первые раунды отбора SIRPα мыши выявили два антитела (SIRPAB-5 и SIRPAB-17), демонстрирующих связывание SIRPα NOD-SCID (**Фиг. 3**). Дополнительное аффинное созревание с SIRPAB-17 привело к образованию шести производных связывающих доменов со значительно улучшенной аффинностью связывания SIRPα ДТ и NOD-SCID. Три типичных клона, SIRPAB-19, SIRPAB-20 и SIRPAB-21, были дополнительно оценены на аффинность связывания и CD47-блокирующую активность (см. ниже). Каждый из них был слит с Fc mIgG2a для исследований эффективности in vitro и in vivo.

5.2 **Пример 2: Характеристика антител к SIRPα**

5.2.1 **Характеристика связывающих свойств антител к SIRPα человека**

[00608] Первоначальные характеристики связывания антител с клетками SIRPα человека или макака были проведены с SIRPAB-11-4PE, вариантом Fc IgG4PE, сконструированным для ослабления эффекторной функции FcγR. Клетки CHO, сверхэкспрессирующие SIRPα человека или макака, были получены путем стабильной трансфекции или транзиторной трансфекции. Серийно разведенные антитела добавляли к клеткам, затем промывали и дополнительно инкубировали со вторичным выявляющим антителом IgG-AF647 человека. Уровни связывания антител анализировали путем определения средней интенсивности флуоресценции (MFI) с помощью проточной цитометрии. SIRPAB-11-K322A связывается с клетками SIRPα-CHO человека с EC_{50} равной 2,06 нМ и SIRPα-CHO макака с EC_{50} равной 1,9 нМ, и не связывается с SIRPα-CHO крысы или мыши (**Фиг. 4A-4D**).

[00609] В других анализах очищенное антитело SIRPAB-11-K322A анализировали на Biacore T200 на связывание с антигенами SIRPα v1-DLN (например, SIRPα1), SIRPβ и SIRPγ с использованием метода захвата. Для проведения анализов связывания получали внеклеточный домен SIRPα v1-DLN (например, SIRPα1) с последовательностью SEQ ID NO:101, SIRPβ с последовательностью MPVPASWPHLPSPFLLMTLLLGRLTGVAGEDELQVIQPEKSVSVA AGESATLCCAMTSLIPVGPIMWFRGAGAGRELIYNQKEGHFPRVTTVSELTKRNNLDFSI SISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPSAPVVSGPAVRATPEHTV SFTCESHGFSPRDITLKWFKNGNELSDFQTNVDPAGDSVSYSIHSTARVVLTRGDVHSQV ICEMAHITLQGDPLRGTANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRAENQANVTCQVSNFYPRGLQL TWLENGNVSRTETASTLIENKDGTYNWMSWLLVNTCAHRDDVVLTCQVEHDGQQAVS KSYALEISAHQKEHGSDITHEPALAPTAPL (SEQ ID NO:108) и SIRPγ с последовательностью MPVPASWPHPPGPFLLLTLLLGLTEVAGEEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP

VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYCV KFRKGSPENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSPRDITL KWFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVVLDPWDVRSQVICEVAHVTLQGDPL RGTANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPQSLQLTWSENGNVCQRET ASTLTENKDGTYNWTSWFLVNISDQRDDVVLTCQVKHDGQLAVSKRLALEVTVHQKD QSSDATP (SEQ ID:114).

[00610] Для захвата антител использовался чип на основе белка A от GE Healthcare (кат. номер 29127556), очищенное антитело SIRPAB-11-K322A захватывали на канале 2, а антигены SIRP пропускали через канал 1 и 2 с использованием пятикратных серийных разведений от 20 нМ до 0,16 нМ для определения кинетики связывания. Поверхность чипа регенерировали между каждой концентрацией антигена с помощью 10 мМ глицина, pH 1,5. Пример k_a, k_d и рассчитанной $K_Д$ для антитела SIRPAB-11-K322A и SIRPα, SIRPβ и SIRPγ показаны в **Таблице 15 ниже**.

Таблица 15: Измерения Biacore параметров связывания между SIRPAB-11-K322A и каждым из SIRPα, SIRPβ и SIRPγ

	Связывание SIRPAB-11-K322A с SIRPα	**Связывание SIRPAB-11-K322A с SIRPβ**	**Связывание SIRPAB-11-K322A с SIRPγ**
k_a (константа скорости ассоциации)	$7{,}75\times10^{6}$ (1/Мс)	$5{,}06\times10^{4}$ (1/Мс)	$1{,}71\times10^{7}$ (1/Мс)
k_d (константа скорости диссоциации)	$1{,}18\times10^{-4}$ (1/с)	$6{,}14\times10^{-4}$ (1/с)	$1{,}88\times10^{-4}$ (1/с)
$K_Д$ (константа равновесной диссоциации)	$1{,}52\times10^{-11}$ М	$1{,}21\times10^{-8}$ М	$1{,}01\times10^{-11}$ М
Омакс (ЕО=единица ответа)	12,48 ЕО	30,09 ЕО	9,4 ЕО

[00611] Кроме того, аффинность между антителами к SIRPα и шестью наиболее распространенными гаплотипами SIRPα человека (включая SIRPα от v1 до v6, как описано выше, SEQ ID NO:101, 103, 105, 93, 95, 97), SIRPβ человека (SEQ ID NO:108), SIRPγ человека (SEQ ID NO:114), SIRPα макака (SEQ ID NO:115), SIRPα мыши (SEQ ID NO:102) и SIRPα мыши NOD/SCID (SEQ ID NO:100) определяли и сравнивали в Octet Systems (от Pall ForteBio). Различные конструкции SIRPα, β и γ были соединены через линкер GS (глицин-серин) с IGHG1_Fc человека, имеющим последовательность DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV

DGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:109). Полученные слитые белки, включая различные SIRPα-Fc человека, SIRPα-Fc макака (SEQ ID NO:104), SIRPβ-Fc человека (SEQ ID NO:92), SIRPγ-Fc человека (SEQ ID NO:113), SIRPα-Fc мыши (SEQ ID NO:96) и SIRPα-Fc мыши NOD/SCID (SEQ ID NO:94), были приготовлены и использованы для измерения аффинности в Octet. Измерения из Octet Systems полезны для изучения взаимодействия большого количества пар связывания в формате высокой пропускной способности и сравнения взаимодействий различных пар связывания. Вкратце, антигены фиксировали на биосенсорах и погружались в растворы, содержащие антитела, для проведения измерений с высокой пропускной способностью. Результаты, включая k_{on}, k_{off} и $K_Д$, обобщены в **Таблице 16**.

Таблица 16 Краткое описание профиля связывания антител к SIRPα человека

Антитела	**Измерения**	**Связывание SIRPAB с SIRPα, SIRPβ или SIRPγ человека**								**Перекрестная реактивность, $K_Д$ (нМ)**	
		V1 (например, SIRPα1)	V2 (например, SIRPα2)	V3 (например, SIRPα3)	V4 (например, SIRPα4)	V5 (например, SIRPα5)	V6 (например, SIRPα6)	SIRPβ	SIRPγ	Макак	Мш
SIRPAB-1	**Связывание, $K_Д$ (нМ)**	2,95	44,22	54,8	Н.С.	11,3	54,9	4,61	1,43	П.С.	29
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	0,98	0,13	0,085	-	1,17	0,11	0,89	1,04	-	0,41
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	28,9	57,2	46,4	-	132	57,9	41,1	14,9	-	119

SIRPAB-2	**Связывание, $K_д$ (нМ)**	0,299	10,7	12,2	32,6	1,95	11,9	0,89	0,14	19,3	П.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,39	0,69	0,61	0,922	1,43	0,75	1,24	1,46	0,811	-
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	4,13	73,9	73,7	301	28	89,1	11,1	2	157	-
SIRPAB-3	**Связывание, $K_д$ (нМ)**	0,2	П.С.	10,5	П.С.	0,9	9,47	0,22	0,118	7,95	12,6
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,55		0,64		2,26	1,21	1,43	1,69	1,07	1,04
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	3,1		67,6		20,3	114	3,19	2	85	131
SIRPAB-4	**Связывание, $K_д$ (нМ)**	0,45	18,2	19	П.С.	2,51	15,4	1,00	0,144	18	72,8
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,29	0,74	0,61		1,52	0,88	1,21	1,39	0,82	0,13
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	5,82	134	57		38,1	136	12,1	2	149	95,3
SIRPAB-5	**Связывание, $K_д$ (нМ)**	0,165	27,5	9,34	П.С.	0,526	7,96	0,15	0,154	5,42	7,51

	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,22	0,55	0,61		1,6	0,837	1,33	1,3	0,775	0,628
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	2,02	151	57		8,43	66,6	2,00	2	42	47,2
SIRPAB-6	**Связывание, $K_Д$ (нМ)**	6,07	Н.С.	77,8	63,3	38,6	Н.С.	П.С.	8,36	П.С.	Н.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,13		0,161	0,60	0,985			1,14		
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	68,7		125	378	381			95,3		
SIRPAB-7	**Связывание, $K_Д$ (нМ)**	0,15	13,2	10,2	0,95	0,66	12,2	2,56	0,1	4,59	П.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,84	0,73	0,702	1,74	2,17	0,907	1,53	1,94	1,19	
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	2,71	95,6	71,8	16,5	14,3	111	39,1	2	54,6	
SIRPAB-8	**Связывание, $K_Д$ (нМ)**	П.С.	Н.С.	22,3	П.С.	П.С.	П.С.	П.С.	П.С.	Н.С.	Н.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)			1,02							

	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)			226							
SIRPAB-9	**Связывание, $K_Д$ (нМ)**	0,714	23,0	0,53	7,69	4,75	1,56	2,79	1,37	18,8	Н.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,06	0,81	0,98	1,01	0,97	1,17	1,02	1,17	1,13	
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	7,57	185	5,15	77,7	46,2	18,2	28,4	16,1	212	
SIRPAB-10	**Связывание, $K_Д$ (нМ)**	0,25	1,06	0,21	1,93	1,58	0,38	0,34	0,85	4,89	Н.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,4	1,25	1,24	1,38	1,13	1,28	1,40	1,45	1,40	
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	3,45	13,2	2,61	26,7	17,8	4,91	4,77	12,3	68,3	
SIRPAB-11	**Связывание, $K_Д$ (нМ)**	0,13	4,4	0,145	1,52	0,611	0,183	0,32	0,13	4,9	Н.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,49	1,27	1,38	1,50	1,73	1,94	1,49	1,57	1,77	
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	2	55,9	2	22,8	10,6	3,56	4,73	2,05	86,9	

SIRPAB-12	**Связывание, $K_д$ (нМ)**	0,81	15,4	0,53	8,13	4,87	1,58	3,35	1,49	П.С.	Н.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,31	0,98	1,31	1,35	1,43	1,63	1,33	1,46		
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	10,7	151	6,94	109	69,7	25,6	44,5	21,8		
SIRPAB-13	**Связывание, $K_д$ (нМ)**	1,65	17,2	0,83	11,4	7,73	2,71	4,52	4,12	14,9	Н.С.
	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	1,24	1,00	1,17	1,2	1,16	1,35	1,21	1,35	1,32	
	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	20,5	172	9,65	137	892	36,4	54,4	55,8	197	

SIRPAB=антитела к SIRPα; Макак=яванский макака; Мш=мышь; Н.С. = нет связывания; П.С. = плохое соответствие, указывающее на неточность измерений

[00612] Связывание между определенными антителами к SIRPα, которые способны связываться с SIRPα мыши и SIRPα-Fc мыши (SEQ ID NO:96) или SIRPα-Fc мыши NOD/SCID (SEQ ID NO:94), также определяли в Octet Systems (от Pall ForteBio), как описано выше. В дополнительных экспериментах связывание между определенными антителами к SIRPα, способными связываться с SIRPα мыши, и клетками CHO-K1, экспрессирующими SIRPα мыши, также определяли как кратное увеличение по сравнению с фоновым уровнем при концентрации антител 100 нМ. Результаты анализов связывания Octet и анализов связывания с клетками CHO были обобщены в **Таблице 17** ниже.

Таблица 17 Краткое описание связывания между некоторыми антителами к SIRPα и SIRPα мыши

Ат-а	**SIRPα-Fc Мш**			**SIRPα-Fc Мш NOD/SCID**			**SIRPα Мш - Клетка CHO-K1** Кратное увеличение связывания по сравнению с фоновым уровнем (100 нМ)
	Связывание, $K_Д$ (нМ)	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	Связывание, $K_Д$ (нМ)	k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$) ($\times 10^6$)	K_{off} (c^{-1}) ($\times 10^{-4}$)	
SIRPAB-17	17,3	0,22	37,3	152	0,15	228	448,7
SIRPAB-18	2,2	0,29	6,45	28,1	0,16	45,8	2513
SIRPAB-19	1,02	0,64	6,56	4,02	0,46	18,3	2737
SIRPAB-20	0,39	0,76	2,92	3,84	0,53	20,2	4393
SIRPAB-21	1,46	0,49	7,08	5,43	0,35	19,0	2439

Ат-а= антитела; Мш= мышь

[00613] Аналогично, связывание между антителами к SIRPα и клетками CHO-K1, экспрессирующими SIRPα макака или человека, также определяли как кратное увеличение по сравнению с фоновым уровнем при концентрации антител 100 нМ и показано в **Таблице 18** ниже:

Таблица 18: Краткое описание связывания между антителами к SIRPα и клетками CHO-K1, экспрессирующими SIRPα макака или человека.

Антитела	**SIRPα чел - Клетка CHO-K1** Кратное увеличение связывания по сравнению с фоновым уровнем (100 нМ)	**SIRPα макака - Клетка CHO-K1** Кратное увеличение связывания по сравнению с фоновым уровнем (100 нМ)
SIRPAB-1	1762	1610
SIRPAB-2	1982	2116
SIRPAB-3	2048	2284
SIRPAB-4	1582	1583
SIRPAB-5	2259	2679
SIRPAB-6	1981	1538
SIRPAB-7	2100	2391
SIRPAB-8	1310	1023
SIRPAB-9	2649	2295
SIRPAB-10	1168	1068
SIRPAB-11	1894	1951
SIRPAB-12	2347	2216
SIRPAB-13	1940	1948

Чел=человек.

[00614] Первичное связывание клеток с вариантом SIRPAB-11-K322A проводили для сравнения относительного процента связывания моноцитов на мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК) человека и макака. МКПК пяти доноров-людей совместно окрашивали SIRPAB-11-K322A-AlexaFluor647 и моноцитарным маркером CD14, после чего проводили анализ методом проточной цитометрии (**Фиг. 5A**, левый график). Из пяти доноров-людей в среднем 22% МКПК окрашивались положительно на CD14 (моноциты), из которых большинство показало совместное связывание с SIRPAB-11-K322A (**Фиг. 5A**; левый график). Аналогично, МКПК пяти доноров-макак совместно окрашивали SIRPAB-11-K322A и перекрестно-реактивными антителами CD14 (**Фиг. 5A**; правый график). По сравнению с человеческими клетками, в клетках макака присутствовала более низкая популяция CD14-позитивных моноцитов. Однако, подобно клеткам человека, большинство CD14-позитивных клеток макака также связывают SIRPAB-11-K322A (**Фиг. 5A**; правый график).

[00615] Кроме того, для определения подмножеств первичных иммунных клеток человека использовали поверхностные маркеры лимфоидных и миелоидных линий: моноциты (CD14+CD19-); B-клетки (CD14-CD19+); T-клетки (CD14-CD19-CD56-CD3+); естественные клетки-киллеры (NK) (CD14-CD19-CD56+CD3-). Для этой панели проточной цитометрии отобрали клоны с перекрестной реактивностью с поверхностными

маркерами яванского макака. SIRPAB-11-K322A и отрицательный контроль, IgG1 изотипического контроля-K322A, были непосредственно помечены Alexa Fluor 647 (SIRPAB-11-K322A-AF647 и IgG1 изотипического контроля-K322A-AF647, соответственно).

[00616] SIRPAB-11-K322A связывался с CD14+ моноцитами, CD14-CD11b+HLA-DR+ миелоидными дендритными клетками и CD3+ Т-клетками (**Фиг. 5B**). SIRPAB-11-K322A не связывался с естественными клетками-киллерными (NK) или В-клетками. У 11 протестированных доноров-людей связывание SIRPAB-11-K322A было значительно выше на моноцитах (средняя геометрическая интенсивность флуоресценции [gMFI] = 8575,8 ± 1843), чем на Т-клетках (gMFI=687,7 ± 211,9). Большинство связанных с SIRPAB-11-K322A клеток в МКПК человека были CD14+ моноцитами. Процент SIRPAB-11+ CD14+ клеток (17,0 ± 5,7) был сопоставим с процентом CD14+ моноцитов (16,4 ± 6,0) в МКПК человека.

[00617] Для дальнейшего сравнения связывания антител к SIRPα с несколькими видами, было проведено детальное иммунофенотипирование иммунных субпопуляций МКПК макака и проанализировано с помощью многопараметрической проточной цитометрии. Панель антител с перекрестной реактивностью к поверхностным маркерам человека/примата добавляли к набору из пяти МКПК донора-человека или донора-яванского макака вместе с SIRPAB-11-K322A или IgG изотипического контроля-K322A. После надлежащего определения и гейтирования популяций B-, T-, NK-, дендритных (DC) клеток и моноцитов, как описано выше, количество окрашивания SIRPAB-11-K322A сравнивали между клетками человека и яванского макака, как показано на **Фиг. 5C-5D**. Связывание SIRPAB-11-K322A с субпопуляциями иммунных клеток яванского макака было сравнимо с человеческими и ограничивалось моноцитами CD14+, миелоидными дендритными клетками и Т-клетками (**Фиг. 5C-5D**); МКПК яванского макака: SIRPAB-11-K322A в сравнении с IgG изотипического контроля-K322A для моноцитов, p=0,001; миелоидные дендритные клетки, p=0,017; и Т-клетки, p <0,001). Из пяти протестированных доноров-людей и доноров-яванских макак в среднем 22% и 9%, соответственно, МКПК окрашивались положительно на CD14. Как и с МКПК человека, основным иммунным подмножеством, распознаваемым SIRPAB-11-K322A, были CD14+ моноциты в МКПК яванского макака. Абсолютное количество молекул антитела SIRPAB-11-K322A, связанных с CD14+ моноцитами яванского макака, было ниже, чем количество молекул, связанных с CD14+ моноцитами человека (gMFI=7245 ± 490 в сравнении с 32532 ± 12672, соответственно) из-за более низкой экспрессии SIRPα на моноцитах яванского макака.

[00618] Кроме того, оценивали связывание SIRPAB-11-4PE с цельной кровью яванского макака. В свежей цельной крови двух доноров-яванских макак блокировали Fc перед добавлением серийно разведенных антител к SIRPAB-11, конъюгированных с PE, или антител IgG изотипического контроля-4PE в повторяющиеся лунки. Также в каждый образец добавляли антитело CD14-APC для окрашивания популяции моноцитов. Для

выявления связывания антител проводили проточную цитометрию. Средняя интенсивность флуоресценции для каждого образца, протестированного в популяции CD14+, была построена на графике, как показано на **Фиг. 5E**. В случае двух доноров-яванских макак, SIRPAB-11-4PE продемонстрировал дозозависимое связывание с рассчитанной EC_{50} равной 0,43 нМ и 0,39 нМ. IgG изотипического контроля-4PE у обоих доноров показал минимальное окрашивание при самой высокой дозе (400 нМ).

[00619] Для проверки связывания антитела к SIRPα мыши с SIRPα мыши шесть типичных антител к SIRPα мыши с мышиным IgG2a были дозо-титрованы и проверены на связывание с CD11b+ моноцитами клеток мыши C57BL/6 методом проточной цитометрии (**Фиг. 5F**). SIRPAB-19, SIRPAB-20 и SIRPAB-21 продемонстрировали самое сильное связывание, с EC_{50} от 0,28 нМ до 0,63 нМ.

5.2.2 **Характеристика активности антител к SIRPα в блокировании связывания CD47-SIRPα**

[00620] Способность SIRPAB-11-K322A блокировать взаимодействие SIRPα с CD47 была проанализирована с помощью прибора Biacore T200. Рекомбинантный CD47-ВКД человека был получен в клетках HEK293, а рекомбинантный белок SIRPα был приобретен у компании Novoprotein (кат. номер C385). CD47-ВКД имеет последовательность SEQ ID NO:116. CD47-ВКД был слит с меткой Avi-His, имеющей последовательность RSGGGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHH (SEQ ID NO:107), для получения His-меченого CD47-ВКД (SEQ ID NO:99). Для анализа блокирования CD47-ВКД был иммобилизован до уровня около 4022 ЕО на проточном канале 2, и анализ проводился путем предварительной инкубации фиксированной концентрации SIRPα в 20 нМ и серии 3-кратных разведений SIRPAB-11-K322A от 100 нМ до 0,4 нМ. Предварительно инкубированные образцы антигена SIRPα и SIRPAB-11-K322A пропускали через каналы 1 и 2, и данные анализировали с использованием модели аффинность-в-растворе на Biacore T200. Данные представлены на **Фиг. 6A.** Рассчитанное значение IC50 составило 12,59 нМ. При самой высокой концентрации, 100 нМ SIRPAB-11-K322A, 97,43% рекомбинантного белка SIRPα человека (20 нМ) было подавлено от связывания с иммобилизованным CD47.

[00621] Кроме того, для проверки блокирующей активности CD47 антител к SIRPα мыши, антитела к SIRPα мыши инкубировали против 6,7 нМ mCD47-hFc (ранее определенная EC_{50} связывания mCD47-hFc) для связывания с макрофагами C57/BL6. После промывки оставшееся количество связанного mCD47-hFc определяли методом проточной цитометрии с использованием выявляющего антитела к Fc человека. Как показано на **Фиг. 6B**, четыре антитела к SIRPα мыши, включая SIRPAB-19, SIRPAB-20, SIRPAB-21 и SIRPAB-18, значительно ингибировали связывание CD47 с макрофагами мыши, среди которых три антитела к SIRPα мыши (SIRPAB-19, SIRPAB-20 и SIRPAB-21) были эффективны в блокировании > 90% связывания mCD47 при концентрации, равной или превышающей 0,5 нМ.

5.3 **Пример 3: Картирование эпитопов**

[00622] Эпитоп SIRPAB-11-K322A был определен путем разрешения кристаллической структуры антигенсвязывающего фрагмента (Fab) SIRPAB-11 в комплексе с внеклеточным доменом 1 SIRPα человека (также известного как домен IgV SIRPα) с разрешением 2,2 Å (**Фиг. 7A**). Взаимодействие SIRPα:Fab происходит в наиболее дистальной части области SIRPα относительно трансмембранного домена. В целом, сайт взаимодействия SIRPα:Fab характеризуется перекрытием с сайтом связывания CD47 (**Фиг. 7B**) и согласуется с наблюдением, что SIRPAB-11-K322A может полностью блокировать связывание CD47. Петля CDR3 HC SIRPAB-11-Fab опосредует большинство полярных взаимодействий SIRPα/Fab и частично вставляется в большой карман SIRPα, образованный преимущественно остатками Phe74, Ile36, Leu30, Lys93 и Asn52 (**Фиг. 7A**). Этот же карман также распознается петлей F-G CD47 (**Фиг. 7B**). Три важных отрицательно заряженных остатка на HC Fab (Glu57, Glu99 и Asp106) устанавливают ключевые электростатические взаимодействия с положительно заряженными остатками SIRPα (Arg95, Lys96 и Arg69, соответственно) (**Фиг. 7A**). Дополнительные водородные связи в интерфейсе комплекса наблюдаются между Asn59 HC Fab и Ser98 SIRPα, Ser102 HC Fab и Arg69 SIRPα, и Asn53 LC Fab и Thr67 SIRPα (**Фиг. 7A**).

5.4 **Пример 4: Клеточные линии для экспрессии антител и получения антител**

5.4.1 **Молекулярное клонирование тяжелой и легкой цепей**

[00623] Для экспрессии антител к SIRPα были сконструированы несколько вариантов вектора экспрессии млекопитающих pTT5 (Национальный исследовательский совет Канады, Оттава, Канада) с оптимизированными по кодонам сигнальными пептидами, VH или VL «лишней» области, сконфигурированной для бесшовного клонирования, и константными областями LC или HC (ATUM, Ньюарк, Калифорния). В частности, в качестве LC-вектора использовали pDT5-SP6-Vk-каппа-Hs_257445, а в качестве HC-вектора - pDT5-SP1-VH-IgG1_K322A_KEMA_257440 (где KEMA представляет аминокислоты, составляющие тот же смешанный аллотип, который используется в герцептине, а pDT5 указывает на остов pTT5, реконфигурированный для бесшовного клонирования). Вариабельные области были преобразованы в кодон-оптимизированные синтезированные ДНК и субклонированы в «лишние» области описанных векторов с использованием методов бесшовного клонирования (ATUM). Вектор HC назван pDT5-SP1-JDS-1462, а вектор LC - pDT5-JDS-SP6-1464_261066.

5.4.2 **Получение переходных белков**

[00624] Антитела к SIRPα были изготовлены, например, в лабораторном масштабе в 3 л шейкерных колбах для исследований эффективности in vitro и in vivo. Использовали экспрессионную систему ExpiCHO для транзиторной трансфекции клеток ExpiCHO по стандартному протоколу Life Technologies (ThermoFisher Scientific). Во время трансфекции для ДНК-смеси при концентрации 0,5 мг/л культуры использовали соотношение LC и HC 1:1. Клетки засевали в количестве 6×10^6 клеток/мл в шейкерную колбу объемом 3 л с рабочим объемом 1 л при 37°C плюс 5% CO2, затем клетки трансфицировали по стандартным протоколам Life Technologies. На 1 день после

трансфекции добавляли стандартные энхансеры 1 и 2. Жизнеспособность и титр клеток контролировали каждый день, супернатант собирали на 8-й день после трансфекции, для анализа жизнеспособности использовали прибор VICELL, а для анализа титра - Octet red, оснащенный датчиком на основе белка А. Клетки и супернатант собирали, используя колонки GE Life Sciences для глубинной фильтрации и стерилизации. 5 мкм капсулы ULTA Prime GF использовали для глубинной фильтрации с последующим использованием 0,6/0,2 мкм стерилизационных капсул ULTA Pure HC. Рост и жизнеспособность клеток, а также титр показаны на **Фиг. 8**.

5.4.3 **Очистка антител к SIRPα**

[00625] Очистку экспрессированных антител к SIRPα проводили с помощью серии последующих этапов очистки, включая аффинную хроматографию с белком А и инактивацию вируса при низком pH, с последующими этапами хроматографии ИО-взаимодействием (CAPTO Adhere и CAPTO SP ImpRes).

[00626] Вкратце, аффинную хроматографию с белком А проводили с помощью MABSELECT SURE (GE Healthcare Life Sciences), разработанного для захвата продукта и удаления примесей, связанных с процессом. Последующий этап вирусной инактивации проводили в кислых условиях (pH 3,4 ± 0,1) с последующим кондиционированием инактивационного пула до pH 5,5 ± 0,1. После вирусной инактивации использовали анионный обменник в проточном режиме для незамедлительного этапа доочистки с применением CAPTO Adhere для удаления примесей, таких как агрегаты, ДНК, белки клетки-хозяина и эндотоксины. Пул продукта доводили до pH 6,5 ± 0,1, а проводимость снижали до 2 мСм/см перед проведением следующего этапа процесса. В качестве этапа доочистки использовали катионный обменник CAPTO SP ImpRes и проводили разрешение продукта при 10 мСм/см. Затем проводили замену буфера антитела в исходном растворе (10 мМ сукцината, 9% сахарозы, 0,05%% PS20, pH 5,5) и концентрировали до 18,6 мг/мл. Затем пул продукта фильтровали через 0,2 мкм фильтр и аликвотировали.

[00627] Для экспрессии и очистки SIRPα и Fab из SIRPAB-11-K322A для кристаллографических исследований, ген домена 1 SIRPα ДТ (изоформа 1 SHPS1, остатки 31-149, идентификатор UNIPROT P78324-1) синтезировали с помощью GENSCRIPT с оптимизацией кодонов для экспрессии в S. frugiperda и клонировали в вектор pFastBac1 (Invitrogen) между сайтами BamH1 и Xho1. Для секреции SIRPα использовали последовательность сигнального пептида GP67 (MLLVNQSHQGFNKEHTSKMVSAIVLYVLLAAAAHSAFA (SEQ ID NO:206)). Для облегчения очистки к С-концу белка был добавлен сайт расщепления тромбином и 6-кратная гистидиновая метка. Рекомбинантные бакуловирусы получали с помощью системы BAC-TO-BAC (Invitrogen) и использовали для заражения клеток. Инфицированные клетки выращивали при 27°C в течение 48 часов в присутствии кифунезина для ограничения гликозилирования белков; супернатанты культуры сохраняли для очистки сверхэкспрессированного белка. Супернатанты подвергали

аффинной очистке с помощью колонки Ni-NTA объемом 5 мл (смола для очистки His-Tag COMPLETE, Roche) при скорости потока 5 мл/мин в хроматографической системе Äcta Pure. Фракции, содержащие интересующий белок, дегликозилировали с помощью фермента ENDO-H и далее очищали с помощью стадии эксклюзионной хроматографии по размеру и последующей стадии анионообменной хроматографии. Антигенсвязывающий фрагмент из SIRPAB-11-K322A IgG1 получали с помощью набора для получения Fab Pierce. Для экспериментов по кристаллизации SIRPα и Fab смешивали в равных стехиометрических соотношениях и концентрировали до 18 мг/мл. Кристалл SIRPAB-11-K322A SIRPα/Fab получали в 0,1 М 4-морфолинэтансульфоновой кислоте pH 6,5, 25% мас./об. метилового эфира полиэтиленгликоля 550 и 0,01 М сульфате цинка.

5.5 **Пример 5: Характеристика связывания антитела с кристаллизующимся фрагментом гамма-рецептора.**

[00628] Fc-область IgG может взаимодействовать с FcγR с высокой и низкою аффинностью, опосредуя иммунные эффекторные функции, включая антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) и антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ) (Nimmerjahn F, et al., Immunity. 2006 Jan;24(1):19-28; Abès R, et al., Expert Rev Clin Immunol. 2009 Nov;5(6):735-47; Desjarlais JR, et al., Exp Cell Res. 2011 May 15;317(9):1278-85).

[00629] Способность связывания SIRPAB-11 и его вариантов с различными остовами Fc оценивали на различных FcγR-сконструированных клетках HEK293. Как показано в **Таблице 19**, SIRPAB-11-K322A продемонстрировал связывание с FcγR1-3 человека с EC_{50}, сопоставимыми с антителом IgG1 изотипического контроля дикого типа (ДТ) и другим коммерчески доступным IgG1.

Таблица 19: Краткое описание определения EC_{50} клеточного связывания SIRPAB-11-K322A в сравнении с контролем

EC_{50}, нМ	IgG1 изотипического контроля	SIRPAB-11-K322A	Коммерчески доступный IgG1
FcγR1 (CD64)	1,18	0,79	0,83
FcγR2A (CD32aH131)	137	200	361
FcγR2A (CD32aR131)	90,2	194	188
FcγR2B	1200	2478	1325
FcγR3A (CD16aV158)	448,6	795,1	574,6
FcγR3A (CD16aF158)	311,3	1200	1270

FcγR=кристаллизующийся фрагмент гамма-рецептора.

[00630] Способность связывания SIRPAB-11 с IgG1K322A, IgG1AAS или вариантом IgG4PE дополнительно оценивали на различных FcγR-сконструированных клетках HEK293. Как показано в **Таблице 20**, SIRPAB-11-K322A показал связывание с

FcγR1-3 человека с EC_{50}, сопоставимым с антителом IgG1 изотипического контроля. Как и ожидалось, варианты SIRPAB-11-4PE или SIRPAB-11-AAS с ослабленными Fc-областями продемонстрировали значительно более низкое связывание со всеми линиями FcγR **Таблица 20**.

Таблица 20: Краткое описание связывания клеточной линии кристаллизуемого фрагмента гамма-рецептора EC_{50} нМ вариантов SIRPAB-11

EC_{50}, нМ		SIRPAB-11		
	IgG1 изотипического контроля	K322A	AAS	4PE
FcγR1 (CD64)	0,98	0,79	3175	756
FcγR2B	2245	2709	> 20000	5178
FcγR3A (CD16aV158)	127	142	15100	2061

FcγR=кристаллизующийся фрагмент гамма-рецептора; IgG1=иммуноглобулин G1.

5.6 **Пример 6: Характеристика АЗКЦ, КЗЦ и АЗКФ антител к SIRPα**

[00631] АЗКЦ - это известный иммунный механизм, в котором взаимодействие авидного связывания, запускаемое через FcγR3 (низкая аффинность), активирует NK-клетки для лизиса связанных с антителами клеток-мишеней. Поскольку было продемонстрировано, что SIRPAB-11 связывает FcγR (см. Таблицы 19 и 20 выше), была изучена способность SIRPAB-11 индуцировать АЗКЦ клеток, экспрессирующих SIRPα. Индукция SIRPAB-11-опосредованной АЗКЦ, направленной против клеточной линии MOLM-13 человека, была протестирована in vitro с помощью 3-часовых анализов совместного культивирования с использованием IL-2-активированных PBMC человека от пяти доноров в качестве эффекторных клеток. Эффекторные клетки, обработанные тремя различными антителами к CD33, использовали в качестве положительного контроля; клетки, обработанные IgG1 изотипического контроля-K322A и IgG1 изотипического контроля, использовали в качестве отрицательных контролей. Клетки инкубировали с антителами при соотношении эффекторных и целевых клеток (E:T) 80:1. Лизис клеток определяли методом флуоресцентной цитометрии с помощью флуоресцентного цитометра Mirrorball.

[00632] Экспрессия SIRPα и CD33 на устойчивых уровнях на клетках MOLM-13 была подтверждена методом проточной цитометрии с использованием непосредственно конъюгированных с флуоресцентным красителем антител SIRPAB-11-IgG4PE-AF647 и CD33-фикоэритрин (PE). При использовании МКПК от трех доноров среднее процентное значение уровня АЗКЦ составило 0,5 ± 2 при 200 нМ SIRPAB-11-K322A, самой высокой протестированной концентрации (см., например, **Фиг. 9A**). Этот уровень был аналогичен процентному значению базового уровня АЗКЦ, определенному с помощью антитела IgG1 изотипического контроля (-1,0 ± 1,2) и антитела IgG1 изотипического контроля-K322A (-

1,0 ± 2,2). В анализах с использованием PBMC от двух дополнительных доноров, обработка 133 нМ SIRPAB-11-K322A, самой высокой концентрации, продемонстрировала среднее процентное значение уровня АЗКЦ -1,2 ± 3,1, что было таким же, как базовый уровень для антитела IgG1 изотипического контроля (-1,3 ± 1,8), и таким же, как для антитела IgG1 изотипического контроля-K322A (2,3 ± 3,2) (см. **Фиг . 9A** для примера). Три положительных контрольных антитела к CD33 (два в формате IgG1 и одно в формате IgG4) продемонстрировали АЗКЦ в диапазоне от 14,4% до 22,1% АЗКЦ при самой высокой концентрации у 5 доноров. Эти анализы показали, что SIRPAB-11-K322A не индуцирует АЗКЦ, направленную на клетки MOLM-13.

[00633] Кроме того, SIRPAB-11-K322A-опосредованная АЗКЦ, направленная на аутологичные SIRPγ-экспрессирующие CD4+ и CD8+ Т-клетки и аутологичные SIRPα-положительные моноциты, была оценена с использованием IL-2-активированных NK-клеток в качестве эффекторов. Эффекторные клетки инкубировали с клетками-мишенями (моноцитами, неактивированными Т-клетками или активированными стафилококковым энтеротоксином B [SEB] Т-клетками) в соотношении 10:1 в течение 3 часов, после чего лизис клеток измеряли методом проточной или флуоресцентной цитометрии. Т-клетки-мишени, предварительно инкубированные с IgG1 к CD3 и IgG1 к CD4, использовали в качестве положительного контроля, а IgG1 изотипического контроля-K322A, IgG1 изотипического контроля или Fc, не обладающий эффекторной функцией, к CD3 использовали в качестве отрицательного контроля. Для анализов с моноцитами в качестве клеток-мишеней проводили предварительную инкубацию клеток-мишеней с IgG1 к CD33, а в качестве отрицательных контролей использовали IgG1 изотипического контроля-K322A и IgG1 изотипического контроля.

[00634] Чтобы определить, изменяется ли экспрессия SIRPγ в зависимости от состояния активации CD4+ и CD8+ Т-клеток, SIRPAB-11-IgG4PE, непосредственно конъюгированный с Alexa647, использовали для анализа проточной цитометрии вместе с антителом CD69-APC/Fire 750, которое связывается с активированными Т-клетками. Средний gMFI неактивированных и активированных SIRPAB-11-IgG4PE+ CD4+ Т-клеток у трех отдельных доноров составил 412 ± 90,2 и 445 ± 109,7, соответственно, что указывает на отсутствие изменений в экспрессии SIRPγ в отсутствие или в присутствии стимуляции SEB. Аналогичные данные по связыванию SIRPAB-11-IgG4PE были получены в неактивированных и активированных CD8+ Т-клетках от двух отдельных доноров (средние значения gMFI: 267 ± 202 и 301 ± 223, соответственно).

[00635] Анализы цитотоксичности с использованием совместно культивированных аутологичных NK-эффекторных клеток и целевых CD4+ Т-клеток от трех доноров показали, что обработка SIRPAB-11-K322A не индуцировала АЗКЦ аутологичных CD4+ Т-клеток в неактивированном или SEB-активированном состоянии (например, см. **Фиг. 9B-9C**). Естественные клетки-киллеры, совместно культивированные с CD4+ Т-клетками, предварительно инкубированными с SIRPAB-11-K322A (20 нМ), демонстрировали низкий процент специфического для цитотоксичности уничтожения в лунках с (1,2 ± 5,8) или без

(2,2 ± 4,2) активации SEB (n=3). Аналогичные данные были получены при использовании 100 нМ SIRPAB-11-K322A у двух из трех доноров (см. **Фиг. 9A**). Этот уровень цитотоксичности был сравним с тем, который наблюдался при использовании отрицательного изотипического контроля, IgG1 изотипического контроля-K322A, и базовых лунок, содержащих клетки-мишени и эффекторные клетки без антитела. Оба положительных контроля, IgG1 к CD3 и IgG1 к CD4, вызывали более высокие уровни цитотоксичности при 20 нМ. При лечении антителом IgG1 к CD3 средний процент АЗКЦ у всех трех доноров составил 37,3 ± 10,3 и 44,5 ± 18,4, с активацией SEB и без нее, соответственно. При лечении антителом IgG1 к CD4 средний процент АЗКЦ у всех трех доноров составил 26,0 ± 8,2 без SEB и 17,1 ± 3,0 с активацией SEB.

[00636] Анализы цитотоксичности с использованием совместно культивированных аутологичных NK-эффекторных клеток и целевых CD8+ Т-клеток от двух доноров показали, что обработка SIRPAB-11-K322A не индуцировала АЗКЦ аутологичных CD8+ Т-клеток в неактивированном или SEB-активированном состоянии (например, см. **Фиг. 9D-9E**). Естественные клетки-киллеры, совместно культивированные с CD8+ Т-клетками, предварительно инкубированными с SIRPAB-11-K322A (100 нМ), показали низкий уровень цитотоксичности с активацией SEB или без нее (средние проценты специфического для цитотоксичности уничтожения [n=2]; -1,7 ± 1,1 и 0,3 ± 0,5, соответственно). Этот уровень цитотоксичности был сравним с тем, который наблюдался при использовании отрицательного изотипического контроля, IgG1 изотипического контроля-K322A. Антитело IgG1 к CD3 положительного контроля вызывало более высокий процент цитотоксичности при 100 нМ, с (20,1 ± 15,5, в среднем n=2) или без (29,5 ± 16,0, в среднем n=2) активации SEB, по сравнению с тем, что наблюдалось с SIRPAB-11-K322A.

[00637] Аналогично, анализы цитотоксичности с использованием совместно культивируемых аутологичных NK-эффекторных клеток (ранее использованных для экспериментов по АЗКЦ Т-клеток) и целевых моноцитов от одного донора показали, что обработка SIRPAB-11-K322A не индуцировала АЗКЦ аутологичных моноцитов при тестируемых условиях анализа (**Фиг. 9F-9G**). Цитотоксичность, измеренная методом проточной цитометрии (**Фиг. 9F**) и с помощью флуоресцентной цитометрии Mirrorball (**Фиг. 9G**), дала аналогичные результаты. Естественные клетки-киллеры, совместно культивированные с моноцитами, предварительно инкубированными с SIRPAB-11-K322A (100 нМ), демонстрировали низкий уровень цитотоксичности, сравнимый с отрицательным изотипическим контролем, антителом IgG1 изотипического контроля-K322A (-0,5% SIRPAB-11-K322A по сравнению с -0,9% IgG1 изотипического контроля-K322A специфического для цитотоксичности уничтожения). Обработку IgG1 к CD33 протестировали в этой системе совместных культур, поскольку она индуцировала АЗКЦ против опухолевых клеток MOLM-13, но не продемонстрировала уничтожения клеток (-0,6% IgG1 к CD33 по сравнению с -0,8% IgG1 изотипического контроля специфического для цитотоксичности уничтожения).

[00638] Комплемент-зависимая цитотоксичность (КЗЦ) была определена как иммунный механизм, в котором антитело-опсонизированные мишени (*например*, микроорганизмы и клетки) разрушаются компонентами каскада комплемента. Способность SIRPAB-11 и его модифицированных Fc-вариантов вызывать КЗЦ оценивали с помощью клеточной линии лимфомы REC-1, в которой экспрессируются как SIRPα, так и CD20. Для оценки КЗЦ была определена экспрессия мишеней на поверхности клеточной линии неходжкинской лимфомы REC-1. Клетки окрашивали SIRPAB-11-K322A или SIRPAB-11-IgG4PE. Связывание было обнаружено с помощью антитела IgG человека, конъюгированного с Alexa Fluor 647. В качестве отрицательных изотипических контролей использовали антитела IgG1 изотипического контроля человека и IgG4 изотипического контроля-4PE. В качестве положительного контроля окрашивания использовали антитело CD20. Анализы комплемент-зависимой цитотоксичности проводили путем инкубации клеток REC-1 с SIRPAB-11-K322A, SIRPAB-11-IgG4PE или антитела к CD20 в диапазоне концентраций. Разведенную кроличью сыворотку добавляли в качестве источника комплемента перед определением жизнеспособности клеток с помощью люминесцентного анализа жизнеспособности клеток. В качестве отрицательных контролей использовали антитела IgG1 изотипического контроля и IgG4 изотипического контроля-4PE.

[00639] Связывание с SIRPα-положительными клетками неходжкинской лимфомы человека REC-1 SIRPAB-11-K322A, SIRPAB-11-IgG4PE и антителом CD20 человека-mIgG2a в фиксированной концентрации 66,7 нМ было подтверждено методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентно конъюгированных вторичных антител. Как описано выше, Fc-область SIRPAB-11-K322A сконструировали с мутацией лизина в положении 322 на аланин (K322A), чтобы заглушить взаимодействие комплемента C1q. Способность SIRPAB-11-K322A фиксировать комплемент сравнивали с SIRPAB-11-IgG4PE (который, как ожидается, не будет связывать комплемент из-за остова IgG4PE) в диапазоне концентраций от 0,021 нМ до 333,3 нМ в присутствии сыворотки кролика 3-4 недельной давности, используя люминесцентный анализ жизнеспособности клеток. Антитело IgG1 человека к CD20 (hIgG1) положительного контроля продемонстрировало концентрационно-зависимый лизис клеток-мишеней REC-1 в присутствии комплемента кроличьей сыворотки со значением EC50 равным 0,012 нМ. SIRPAB-11-K322A, SIRPAB-11-IgG4PE, а также IgG1 изотипического контроля и IgG4 изотипического контроля-4PE не проявляли заметной активности КЗЦ при концентрации до 333,3 нМ, самой высокой из протестированных концентраций (**Фиг. 9I**).

[00640] Кроме того, другой Fc-вариант SIRPAB-11, SIRPAB-11-AAS, в самой высокой из протестированных доз не продемонстрировал активности КЗЦ в присутствии 5% кроличьего комплемента (**Фиг. 9H**). В отличие от этого, положительный контроль на основе коммерческого антитела к CD20 показал значительную активность КЗЦ (**Фиг. 9H**).

[00641] Антитело-зависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ) - это иммунный эффекторный механизм, опосредованный связыванием Fc с FcγR1, экспрессированным на макрофагах. Поскольку SIRPAB-11-K322A связывает FcγR1 с EC_{50}, сопоставимым с IgG1

человека ДТ, как описано выше, способность аутологичной АЗКФ с SIRPAB-11-K322A оценивали с человеческими макрофагами (эффекторы), полученными из моноцитов и опсонизированными антителом аутологичными CD3+ иммунными клетками и аутологичными моноцитами (собственные мишени), которые экспрессируют SIRPγ и SIRPα, соответственно.

[00642] Способность SIRPAB-11-K322A индуцировать АЗКФ макрофагами, нацеленными на аутологичные Т-клетки и моноциты, исследовали с использованием изолированных эффекторных и целевых клеток от двух доноров. Антителозависимый клеточный фагоцитоз определяли путем совместного обнаружения флуоресцентно меченых клеток-мишеней внутри эффекторных макрофагов. Процентный уровень фагоцитоза рассчитывали как количество двойных положительных клеток, деленное на общее количество макрофагов, помещенных в лунку. Каждый анализ проводили дважды с клетками каждого донора в диапазоне концентраций от 0,033 нМ до 200 нМ. Для оценки вклада опосредованного Fc-эффектором фагоцитоза, SIRPAB-11-K322A тестировали вместе с антителом SIRPAB-11-IgG4PE, которое имеет идентичные вариабельные области с SIRPAB-11-K322A, но имеет другой Fc-остов. Антитело IgG1 человека к CD3, ранее известное как опосредующее АЗКЦ аутологичных Т-клеток, использовали в качестве контроля для оценки АЗКФ аутологичных Т-клеток. Антитело IgG1 человека к CD33, ранее использовавшееся в качестве положительного контроля для оценки АЗКЦ, направленной на опухоль, включали в качестве контроля для оценки АЗКФ аутологичных моноцитов.

[00643] В анализах совместного культивирования, оценивающих активность АЗКФ, опосредованную SIRPAB-11-K322A, с использованием аутологичных макрофагов и целевых Т-клеток, процентный уровень фагоцитоза составил 1,14 и 1,98 для донора 224 и 2,06 и 1,38 для донора 345 (n=2 для каждого донора) при 200 нМ, самой высокой протестированной концентрации (**Фиг. 9J** и **Таблица 21**для донора 224). Эти уровни были аналогичны 200 нМ антителу IgG1 изотипического контроля-K322A (диапазон от 0,99% до 2,34% фагоцитотических макрофагов по донорам и повторам), а также антителу SIRPAB-11-IgG4PE и его соответствующему контролю, IgG4 изотипического контроля-4PE. Антитело к CD3 положительного контроля вызывало уровень фагоцитоза от 21,13% до 39,72% у двух доноров.

Таблица 21: Результаты анализа фагоцитоза Т-клеток при самых высоких протестированных концентрациях для донора 224

Лечение	Концентрация	Процент АЗКФ (среднее значение из 3 лунок)
SIRPAB-11-K322A	200 нМ	1,14 ± 0,24
SIRPAB-11-IgG4PE	200 нМ	0,91 ± 0,31
IgG1 изотипического контроля-K322A	200 нМ	1,69 ± 0,27

Лечение	Концентрация	Процент АЗКФ (среднее значение из 3 лунок)
IgG4 изотипического контроля-4PE	200 нМ	2,2 ± 0,75
Анти-CD3	20 нМ	39,72 ± 12,98

АЗКФ=антителозависимый клеточный фагоцитоз; CD=кластер дифференциации.

[00644] В анализах с использованием аутологичных моноцитов в качестве мишеней, уровни фагоцитоза для совместных культур, обработанных SIRPAB-11-K322A, составили 1,99% и 2,09% для донора 224 и 1,19% и 3,92% для донора 345 (n=2 для каждого донора) при 200 нМ, самой высокой концентрации (**Фиг. 9K** и **Таблица 22**для донора 345). Эти уровни были аналогичны антителу IgG1 изотипического контроля-K322A (диапазон от 0,63% до 2,29% фагоцитотических макрофагов по донорам и повторам), а также антителу SIRPAB-11-IgG4PE и его соответствующему контролю, IgG4 изотипического контроля-4PE. Антитело IgG1 к CD33 показало процентный уровень фагоцитоза, который был аналогичен изотипическому контролю, что указывает на то, что в данной системе анализа оно не способно индуцировать фагоцитоз аутологичных моноцитов.

Таблица 22: Результаты анализа фагоцитоза моноцитами при самых высоких протестированных концентрациях для донора 345

Лечение	Самая высокая протестированная концентрация	Процент АЗКФ при самой высокой протестированной концентрации
SIRPAB-11-K322A	200 нМ	1,19 ± 1,24
SIRPAB-11-IgG4PE	200 нМ	1,07 ± 0,85
IgG1 изотипического контроля-K322A	200 нМ	0,63 ± 0,62
IgG4 изотипического контроля-4PE	200 нМ	0,63 ± 0,60
Анти-CD33	200 нМ	0,72 ± 0,40

АЗКФ=антителозависимый клеточный фагоцитоз; CD=кластер дифференциации.

5.7 **Пример 7: Анализ иммуногенности антител к SIRPα**

[00645] Существуют различные элементы, которые способствуют иммуногенности антител и белков. Сообщалось, что Т-клеточно-зависимые ответы играют важную роль в развитии иммунных ответов на лекарственные препараты (ADA, англ.: anti-drug antibody) (Jawa V, et al., Clin Immunol. 2013 Dec;149(3):534-55). В качестве инструмента для оценки потенциальной иммуногенности использовали интерфейс интерактивного скрининга и реинжиниринга белков (ISPRI). Интерактивный интерфейс скрининга и реинжиниринга

белков был разработан компанией EpiVax (Провиденс, Род-Айленд) и известен как клинически хорошо зарекомендовавший себя Т-клеточно-зависимый инструмент анализа in silico. С помощью ISPRI иммуногенный потенциал mAb SIRPAB-11 или его варианта был загружен в сервер EpiVax и проанализирован.

[00646] Во-первых, все тяжелые и легкие цепи SIRPAB-11-K322A были проанализированы с помощью программы EpiMatrix, которая проверяет все первичные аминокислотные последовательности на наличие предполагаемых эффекторных Т-клеточных эпитопов (Teff) и регуляторных Т-клеточных эпитопов (Treg). Большее количество Teff увеличивает иммуногенный потенциал, а большее количество Treg уменьшает иммуногенный потенциал каждой последовательности по нормализованной шкале. В целом, скорректированный показатель Treg ниже -30 считается приемлемым (**Таблица 23**). Детальный анализ показал, что большинство CDR, за исключением CDR L2, включают очень мало предполагаемых эффекторных эпитопов Т-клеток (данные не показаны).

Таблица 23: Отчет об иммуногенности

Последовательность белка	Длина	Совпадения EpiMatrix	Оценка EpiMatrix	Скорректированная Epx-оценка tReg
SIRPAB-11_HC	456	178	-12,54	-35,05
SIRPAB-11_LC	214	92	5,18	-29,48
SIRPAB-11_VH	126	44	-13,79	-40,46
SIRPAB-11_VL	107	50	22,82	-35,49

Совпадения EpiMatrix - это количество Z-коэффициентов EpiMatrix выше 1,64, найденных в последовательности. Оценку EpiMatrix рассчитывают на основе количества и интенсивности совпадений EpiMatrix, нормализованных на длине белка. Другими словами, оценка - это избыток или недостаток предсказанной совокупной иммуногенности по сравнению со случайным стандартным пептидом. Аллели, учитываемые при анализе белков: DRB1*0101, DRB1*0301, DRB1*0401, DRB1*0701, DRB1*0801, DRB1*1101, DRB1*1301, DRB1*1501. Эти аллели на локусах класса II HLA использовали для in silico скрининга последовательностей антител на предмет потенциальных пептид-связывающих доменов, в результате чего были получены предполагаемые Т-клеточные эпитопы, которые могут привести к иммуногенности. Jawa V, et al, Clinical Immunology 149; 534-555 (2013).

[00647] Во-вторых, потенциал ADA был предсказан на доменах VH и VL с помощью модуля прогнозирования иммуногенности антител EpiMatrix. При оценке иммуногенного потенциала последовательностей антител EpiVax характеризует эти антитела по двум критериям - содержание Treg и содержание Teff. Антитела с низким содержанием Teff и высоким содержанием Treg имеют наименьшую вероятность быть иммуногенными (оптимальные антитела). Антитела с низким содержанием Teff и низким содержанием Treg также часто неиммуногенны (антитела с низким риском). Антитела

этой категории часто вызывают ответ ADA в диапазоне от 5% до 10%. Антитела с высоким содержанием Teff и высоким содержанием Treg наиболее трудно охарактеризовать. В целом, ожидается, что антитела этой категории будут более иммуногенными, чем антитела низкого риска (смешанные антитела). Антитела с высоким содержанием Teff и низким содержанием Treg, как правило, являются наиболее иммуногенными, причем уровень иммуногенности часто превышает 10% (антитела с высоким риском). Большинство химерных антител относятся к этой категории. Антитело SIRPAB-11-K322A относится к категории оптимальных антител благодаря низкому содержанию Teff и высокому содержанию Treg (**Фиг. 10A** и **Фиг. 10B**). Антитело SIRPAB-11-K322A имеет превосходный показатель иммуногенности антитела EpiMatrix, равный 0,17%, что составляет лишь менее 1/20 показателя иммуногенности (3,66%) эталонного антитела к SIRPα, имеющего аминокислотною последовательность легкой цепи SEQ ID NO:224 и аминокислотною последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:225.

5.8 **Пример 8: Анализы высвобождения цитокинов**

[00648] Антитела, которые индуцируют целевое перекрестное связывание Т-, NK-клеток человека или линий моноцитов, могут инициировать каскад системного высвобождения провоспалительных цитокинов, что приводит к потенциально фатальной системной иммунной реакции. Чтобы определить, может ли связывание SIRPAB-11-K322A опосредовать возникновение «цитокинового шторма», группа цитокинов была измерена на человеческих PBMC от десяти нормальных доноров для оценки системного высвобождения цитокинов. Вкратце, человеческие PBMC выделяли из цельной крови с помощью Ficoll-Paque, и после периода покоя в течение ночи добавляли в планшеты, предварительно покрытые антителами. Через 48 часов супернатанты собрали для определения и анализа мультицитокинов с использованием провоспалительного 9-компонентного Mesoscale (от Meso Scale Diagnostics, LLC). Были собраны данные в общей сложности по десяти донорам и проанализированы в сравнении с изотипическим или положительным контролем (**Фиг. 11A-11J**). Оценивали следующие цитокины: интерлейкин (IL)-1бета (β), IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 p70, фактор некроза опухоли-альфа (TNF α), интерферон-гамма (ИФН-γ) и гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). Использовали титрование концентрации SIRPAB-11-K322A от 30 мкг/мл до 0,001 мкг/мл (от 3 мкг/лунку до 0,0001 мкг/лунку). Антитело к CD3 (клон OKT-3) и липополисахарид (ЛПС) использовали в качестве положительного контроля; человеческий IgG1 изотипического контроля-K322A и коммерческое антитело IgG1 человека использовали в качестве отрицательных изотипических контролей. Репрезентативные данные профилей высвобождения цитокинов представлены для IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNFα, ИФН-гамма и гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора на **Фиг. 11A-11I**, а полный набор данных и статистический анализ показаны на **Фиг. 11J**. Клон OKT-3 антитела к CD3 положительного контроля и/или ЛПС индуцировал высвобождение

восьми цитокинов (IL-1β, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12p70, TNF-α, ИФН-γ и GM-CSF) в PBMC от всех 10 доноров. Положительный контроль практически не индуцировал IL-8. SIRPAB-11-K322A индуцировал минимальные уровни высвобождения цитокинов или уровни, сравнимые с отрицательным контролем (IgG1 изотипического контроля-K322A и IgG1 изотипического контроля).

[00649] Также исследовали способность SIRPAB-11-K322A индуцировать высвобождение цитокинов из ЛПС- и SEB-активированных человеческих PBMC in vitro. Оценивали следующие цитокины: IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 p70, TNF-α, ИФН-γ и GM-CSF. SIRPAB-11-K322A в концентрациях 0,03, 3 и 30 мкг/мл или 0,03, 3 и 30 мкг/лунку использовали в растворимом и связанном с пластинами (иммобилизованном) форматах, соответственно. Мононуклеарные клетки периферической крови выделяли из цельной крови с помощью Ficoll-Paque. Для стимуляции ЛПС, МКПК разделяли поровну на пробирки с 100 нг/мл ЛПС или без него, и добавляли в планшеты, предварительно покрытые антителами, или инкубировали с растворимым антителом в лунках. Для стимуляции SEB, МКПК инкубировали с 0, 1 или 100 нг/мл SEB в течение 24 часов, промывали, а затем добавляли 0, 1 или 100 нг/мл SEB к клеткам перед размещением на планшетах, предварительно покрытых антителами, или инкубировали с растворимым антителом в лунках. Супернатанты культур собирали для анализа цитокинов через 48 часов после посева.

[00650] Чтобы определить, изменяет ли SIRPAB-11-K322A функцию активированных миелоидных клеток, оценивали высвобождение цитокинов из ЛПС-стимулированных PBMC, обработанных растворимым и иммобилизованным SIRPAB-11-K322A. В нестимулированных PBMC общий уровень GM-CSF, ИФН-γ, IL-2, IL-12p70, IL-10 и IL-1β был низким. Стимуляция ЛПС повышала выработку ИФН-γ, IL-10, IL-1β и IL-6. Данные по высвобождению IL-1β из нестимулированных и ЛПС-стимулированных PBMC показаны на **Фиг. 12A** и **Фиг. 12B**, соответственно. Нестимулированные PBMC демонстрировали абсолютные уровни IL-1β, которые были низкими и не имели биологического значения (**Фиг. 12A**). В PBMC, стимулированных ЛПС, обработка SIRPAB-11-K322A не изменяла уровень IL-1β по сравнению с IgG1 изотипического контроля-K332A, независимо от того, были ли антитела растворимыми или иммобилизованными (**Фиг. 12B**). Обработка растворимым или иммобилизованным SIRPAB-11-K322A индуцировала уровни IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, GM-CSF, TNF-α и ИФН-γ, аналогичные тем, которые индуцировали отрицательным контролем, IgG1 изотипического контроля-K322A, независимо от того, были ли PBMC активированы ЛПС. Данные были далее обобщены на **Фиг. 12C**.

[00651] Чтобы определить, изменяет ли SIRPAB-11-K322A функцию предварительно активированных Т-клеток, оценивали высвобождение цитокинов из SEB-стимулированных PBMC, обработанных растворимым и иммобилизованным SIRPAB-11-K322A. В нестимулированных PBMC уровни цитокинов GM-CSF, ИФН-γ, IL-2, IL-12p70, IL-10 и IL-1β были низкими. Стимуляция SEB повышала выработку ИФН-γ, IL-10, IL-1β и

IL-6 в PBMC. Данные по высвобождению ИФН-γ из нестимулированных и SEB-стимулированных PBMC показаны на **Фиг. 12D**, **12E** и **12F**. Стимуляция 1 и 100 нг/мл SEB не изменила уровни ИФН-γ по сравнению с нестимулированными PBMC. Обработка растворимым или иммобилизованным SIRPAB-11-K322A не изменила уровень высвобождения ИФН-γ ни из нестимулированных (**Фиг. 12D**) или стимулированные (**Фиг. 12E** и **12F**) МКПК по сравнению с обработкой IgG1 изотипического контроля-K322A. Обработка растворимым или иммобилизованным SIRPAB-11-K322A привела к уровню IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, GM-CSF и TNF-α, аналогичному уровню, наблюдаемому с отрицательным контролем, IgG1 изотипического контроля-K322A, независимо от того, были ли PBMC активированы любой концентрацией SEB. Данные были далее обобщены на **Фиг. 12G** и **12H**.

5.9 **Пример 9: Анализы фагоцитоза**

5.9.1 **Методы анализов фагоцитоза**

[00652] Активность SIRPAB-11-K322A для стимуляции фагоцитоза опухолевых клеток макрофагами человека в качестве единственного средства или в комбинации с цетуксимабом или ритуксимабом была оценена in vitro с помощью анализов совместного культивирования. Пять клеточных линий солидных опухолей исследовали на предмет влияния SIRPAB-11-K322A, как вместе с цетуксимабом, так и в качестве единственного средства; одну линию DLBCL использовали для изучения эффекта комбинации с ритуксимабом. Эффект единственного средства SIRPAB-11-K322A оценивали с использованием трех клеточных линий острого миелоидного лейкоза (AML) и двух культур PDX. Наличие SIRPα, рецептора эпидермального фактора роста (EGFR, англ.: epidermal growth factor receptor) и CD47 на опухолевых клетках подтверждали методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентно меченых моноклональных антител (*например* SIRPAB-11-IgG4PE-AF647 для окрашивания SIRPα).

[00653] Титрованные дозы SIRPAB-11-K322A (от 0,001 нМ до 20 нМ) в комбинации с цетуксимабом (0,2 нМ или 1 нМ) тестировали с использованием нескольких клеточных линий, включая линии клеток колоректального рака (CRC, англ.: colorectal cancer), GP2d, GP5d, SW480, и линию клеток плоскоклеточной карциномы головы и шеи (HNSCC, англ.: neck squamous cell carcinoma), FaDu, в качестве клеток-мишеней. В исследованиях комбинации с ритуксимабом (0,1 нМ) в качестве клеточной линии-мишени использовали клетки OCI-LY3. Клетки, получавшие лечение цетуксимабом или ритуксимабом отдельно или в комбинации с антителами изотипического контроля, обрабатывали той же концентрацией антитела, которую использовали в лунках с комбинацией SIRPAB-11-K322A. Опухолевые клетки помечали сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеина (CSFE, англ.: carboxyfluorescein succinimidyl ester), опсонизировали цетуксимабом или ритуксимабом и добавляли в лунки, содержащие 40 000 макрофагов, дифференцированных из человеческих донорских моноцитов (n=2). Затем клетки инкубировали с SIRPAB-11-K322A или контрольными антителами в течение 3 часов, после чего макрофаги помечали анти-CD14-APC и количественно оценивали с

помощью многопараметрической визуализации. Процентный уровень фагоцитоза рассчитывали как количество макрофагов, которые были положительными для обоих красителей, деленное на общее количество макрофагов. В качестве положительного контроля использовали только IgG1 к CD47 в концентрации 20 нМ, а в качестве отрицательного контроля - антитело IgG1 изотипического контроля-K322A (20 нМ).

[00654] Для оценки активности единственного средства в качестве клеток-мишеней использовали клеточные линии AML OCI-AML2, MV-4-1, MOLM-13 и культуры AML PDX, AML PDX P1202 и AML PDX P5378. Опухолевые клетки, опсонизированные SIRPAB-11-K322A, SIRPAB-11-IgG4PE или контрольными антителами, добавляли в лунки совместной культуры с 40 000 моноцитарных макрофагов и такими же титрованными дозами SIRPAB-11-K322A, SIRPAB-11-IgG4PE, IgG1 изотипического контроля-K322A или IgG4 изотипического контроля-4PE. Методы те же, что и для комбинированных экспериментов, описанных в этом разделе.

5.9.2 **Активность антител к SIRPα отдельно или в комбинации с цетуксимабом**

[00655] Фагоцитарную активность SIRPAB-11-K322A в комбинации с цетуксимабом оценивали в четырех клеточных линиях колоректального рака (CRC), устойчивых к цетуксимабу, с выявленными изменениями KRAS (Medico E, et al., Nat Commun. 2015 Apr 30;6:7002). Комбинация SIRPAB-11-K322A и цетуксимаба эффективно способствовала фагоцитозу в трех из четырех протестированных клеточных линий CRC. Это были GP2d и GP5d, обе содержащие мутацию KRASG12D; SW480, содержащая мутацию KRASG12V. В четвертой клеточной линии, где не наблюдалось увеличения фагоцитоза при обработке SIRPAB-11-K322A и цетуксимабом, антитело положительного контроля, IgG1 к CD47, оказывало лишь незначительное влияние на фагоцитоз этой клеточной линии по сравнению с тремя другими клеточными линиями CRC, что указывает на то, что эта четвертая клеточная линия менее восприимчивая к модуляции пути CD47/SIRPα (данные не показаны).

[00656] Для демонстрации мишени и путей экспрессии, окрашивание клеточной поверхности SIRPα, EGFR и CD47 на клетках GP2d, GP5d и SW480 оценивали методом проточной цитометрии (**Фиг.13A-13C**). Все три клеточные линии демонстрировали сопоставимо высокие уровни экспрессии CD47 и EGFR. Низкое, но положительное связывание с клеточной поверхностью было продемонстрировано SIRPAB-11-IgG4PE-AF647 по сравнению с изотипическим контролем.

[00657] Опосредованный макрофагами фагоцитоз опухолевых клеток CRC при лечении SIRPAB-11-K322A отдельно или в комбинации с цетуксимабом показан на **Фиг. 13D-13F**. Совместные культуры моноцитарных макрофагов и опухолевых клеток-мишеней, опсонизированных 0,2 нМ или 1 нМ цетуксимаба и обработанных SIRPAB-11-K322A, или обработанных только SIRPAB-11-K322A, продемонстрировали концентрационно-зависимое увеличение фагоцитоза (**Фиг. 13D-13F**). Лечение SIRPAB-11-K322A увеличило фагоцитоз клеточных линий GP2d, GP5d и SW480 CRC в комбинации с цетуксимабом по сравнению с лечением только SIRPAB-11-K322A.

Средние значения EC50 для процента фагоцитотических макрофагов, обработанных комбинацией 1 нМ цетуксимаба и SIRPAB-11-K322A, составляли от 0,28 нМ до 0,44 нМ для этих трех клеточных линий, по сравнению с от 8,79 нМ до > 20 нМ для обработки только SIRPAB-11-K322A, что в ~ 40 раз ниже значения EC50 для комбинации (**Таблица 24**). Более низкие средние значения EC50 также наблюдались при комбинации 0,2 нМ цетуксимаба и SIRPAB-11-K322A по сравнению с одним только SIRPAB-11-K322A, но при этой концентрации цетуксимаба наблюдалась большая вариабельность по донорам. Обработка цетуксимабом отдельно (1 нМ) или в комбинации с IgG1 изотипического контроля-K322A (20 нМ) продемонстрировало средний процентный уровень фагоцитотических макрофагов (n=2 донора) 24, 10,5 и 21 для клеточных линий GP2d, GP5d и SW480 CRC, соответственно. Этот уровень фагоцитоза ниже, чем средний процент фагоцитотических макрофагов для комбинации 1 нМ цетуксимаба и SIRPAB-11-K322A (20 нМ, самая высокая протестированная концентрация) в тех же клеточных линиях (62, 42,5 и 57 для клеточных линий GP2d, GP5d и SW480 CRC, соответственно, n=2 донора), что указывает на увеличение фагоцитоза при лечении SIRPAB-11-K322A.

Таблица 24: Полумаксимальные эффективные концентрации SIRPAB-11-K322A в анализах комбинированного фагоцитоза с цетуксимабом

	Значение EC_{50} (нмоль)										
	GP2d			GP5d			SW480			FaDu	
Донор	**338**	**358**	**Среднее значение**	**338**	**358**	**Среднее значение**	**338**	**358**	**Среднее значение**	**358**	**224**
Без цетуксимаба	13,110	> 20	> 16,56	> 20	> 20	> 20	14,19	3,393	8,79	> 20	НС
0,2 нМ цетуксимаба	0,657	16,210	8,434	0,543	0,886	0,715	0,200	2,061	1,130	0,075	НС
1 нМ цетуксимаба	0,495	0,247	0,371	0,714	0,162	0,438	0,461	0,102	0,282	0,049	НС

EC_{50}=полумаксимальная эффективная концентрация; FaDu=клеточная линия плоскоклеточной карциномы головы и шеи; GP2d, GP5d, SW480=клеточные линии колоректального рака; НС=не считали; нМ=наномолярный.

[00658] Во всех случаях совместные культуры, обработанные только IgG1 изотипического контроля-K322A, демонстрировали низкий уровень фагоцитоза.

[00659] Для определения насыщающих концентраций цетуксимаба на опухолевых клетках CRC провели проточные цитометрические анализы связывания с использованием

клеток GP2d и GP5d. Исходя из расчетов EC10, EC50 и EC90, анализы фагоцитоза GP2d и GP5d проводили при насыщении окрашивания цетуксимабом или около него, при этом значения EC50 и EC90 были значительно ниже 0,2 нМ, использованных в анализах фагоцитоза. Для оценки влияния цетуксимаба в концентрации менее 0,2 нМ на фагоцитоз опухолевых клеток GP2d и GP5d проводили анализы комбинированного лечения in vitro (**Фиг. 13G** и **13H**). Заметное снижение фагоцитоза опухолей обнаружили при использовании цетуксимаба в концентрациях EC90, EC50 и EC10 по сравнению с 0,2 нМ и 1 нМ, которые использовали в анализах фагоцитоза для измерения концентрационно-зависимого эффекта SIRPAB-11-K322A.

[00660] Кроме того, на **Фиг. 13H** показано, что SIRPAB-11-K322A действует синергетически с цетуксимабом в стимулировании фагоцитоза макрофагов. Например, 0,67 нМ SIRPAB-11-K322A вызывало увеличение процента фагоцитотических макрофагов; однако увеличение, наблюдаемое при использовании как 0,67нМ SIRPAB-11-K322A, так и 0,2нМ цетуксимаба, больше, чем сумма увеличений, вызванных 0,67нМ SIRPAB-11-K322A или 0,2нМ цетуксимаба по отдельности (сравните второй столбик слева, третий столбик справа и второй столбик справа на **Фиг. 13H**).

[00661] Фагоцитотический потенциал SIRPAB-11-K322A в комбинации с цетуксимабом также оценивали в клеточной линии FaDu HNSCC (**Фиг. 13I**). В комбинированных анализах совместной культуры макрофаги, полученные из моноцитов, продемонстрировали значительное увеличение фагоцитоза по сравнению с обработкой только SIRPAB-11-K322A, достигнув плато приблизительно 70% фагоцитотических макрофагов при концентрации SIRPAB-11-K322A $\geq$ 0,02 нМ (для 0,2 нМ и 1 нМ цетуксимаба). Средние значения EC50 для процента фагоцитотических макрофагов, обработанных 0,2 нМ или 1 нМ цетуксимаба и SIRPAB-11-K322A, составили 0,08 нМ и 0,05 нМ, соответственно, по сравнению с > 20 нМ при обработке только SIRPAB-11-K322A (**Таблица 24**). Данные, полученные от второго донора, продемонстрировали аналогичное увеличение фагоцитоза при обработке SIRPAB-11-K322A в комбинации с 0,2 нМ цетуксимаба (процент фагоцитотических макрофагов: 34,8 для 20 нМ SIRPAB-11-K322A в комбинации с 0,2 нМ цетуксимаба в сравнении с 1,84 для одного только SIRPAB-11-K322A), но не достигли таких же максимальных уровней фагоцитоза, как это наблюдалось для первого донора, что не позволяет рассчитать значение EC50. Лечение цетуксимабом в комбинации с IgG1 изотипического контроля-K322A (20 нМ) показало процентное содержание фагоцитотических макрофагов, которое было ниже, чем при комбинации цетуксимаба и SIRPAB-11-K322A (20 нМ), что указывает на увеличение фагоцитоза при обработке SIRPAB-11-K322A (процентное содержание фагоцитотических макрофагов для донора 358: 1 нМ цетуксимаба в комбинации с SIRPAB-11-K322A составило 72,1 по сравнению с 31,8 для 1 нМ цетуксимаба в комбинации с IgG1 изотипического контроля-K322A).

5.9.3 **Активность антител к SIRPα в комбинации с ритуксимабом**

[00662] Для оценки комбинированной активности SIRPAB-11-K322A в

гематологических злокачественных опухолях, клетки клеточной линии DLBCL OCI-LY3 опсонизировали ритуксимабом, а затем совместно культивировали с макрофагами в среде, содержащей либо титрованный по концентрации SIRPAB-11-K322A, либо вариант антитела SIRPAB-11-IgG4PE; использовали антитела, соответствующие изотипу и Fc отрицательного контроля. Лечение SIRPAB-11-K322A увеличивало фагоцитоз клеточной линии OCI-LY3 в комбинации с ритуксимабом по сравнению с лечением только ритуксимабом (**Фиг. 14**). Среднее значение EC50 (n=2 донора) для процента фагоцитотических макрофагов, обработанных SIRPAB-11-K322A в комбинации с 0,1 нМ ритуксимаба, составило 0,11 нМ по сравнению с 1,46 нМ для одного только ритуксимаба; значения EC50 единственного средства SIRPAB-11-K322A не могли рассчитать. Аналогичные результаты комбинации наблюдались для SIRPAB-11-IgG4PE, который имеет ту же вариабельную область, что и SIRPAB-11-K322A. Обработка ритуксимабом в концентрации 0,082 нМ (~ 0,1 нМ) показало минимальный фагоцитоз в качестве единственного средства (11,9% и 11,5% фагоцитотических макрофагов, n=2 донора), как и SIRPAB-11-K322A во всем протестированном диапазоне концентраций (< 5% фагоцитотических макрофагов для всех концентраций, n=2 донора). Напротив, значительное увеличение фагоцитоза (до максимальных 63,1% и 75,3% фагоцитотических макрофагов для 20 нМ SIRPAB-11-K322A и 0,1 нМ ритуксимаба, n=2 донора) наблюдалось при комбинации SIRPAB-11-K322A и 0,1 нМ ритуксимаба, начиная с низких концентраций SIRPAB-11-K322A. Минимальное увеличение процентного содержания фагоцитотических макрофагов наблюдалось для ритуксимаба в комбинации с IgG1 изотипического контроля-K322A (% фагоцитотических макрофагов, n=2 донора: 20,7 и 18,6 для 0,1 нМ ритуксимаба в комбинации с 20 нМ IgG1 изотипического контроля-K322A по сравнению с 11,9 и 11,5 для 0,082 нМ [~ 0,1 нМ] только ритуксимаба и ≤ 2 для 20 нМ IgG1 изотипического контроля-K322A)

[00663] Кроме того, на **Фиг. 14** показано, что SIRPAB-11-K322A действует синергетически с ритуксимабом в стимулировании фагоцитоза макрофагов. Например, увеличение фагоцитоза макрофагов, наблюдаемое при использовании 0,1 нМ SIRPAB-11-K322A и 0,1 нМ ритуксимаба, больше, чем сумма увеличений, вызванных 0,1 нМ SIRPAB-11-K322A или 0,1 нМ ритуксимаба по отдельности (сравните точки данных прямо над «-1» на оси x на **Фиг. 14**). Подобное синергетическое действие наблюдалось также между SIRPAB-11-Ig4PE и ритуксимабом, что указывает на то, что синергетическое действие не является уникальным для конкретного варианта Fc.

[00664] Как показано выше, SIRPAB-11-K322A в комбинации с цетуксимабом или ритуксимабом способствовал фагоцитозу клеточной линии HNSCC, клеточной линии DLBCL или клеточной линии CRC в анализах совместного культивирования с человеческими моноцитарными макрофагами. Механизм, лежащий в основе эффекта комбинации против исследуемых клеток, может заключаться в блокаде взаимодействия CD47/SIRPα, что позволяет разблокировать сигнал «don't eat me» (не ешь меня) (Jaiswal S, Cell. 2009 Jul 23;138(2):271-85; Majeti R, et al., Cell. 2009 Jul 23;138(2):286-99),

эффекторно-компетентное антитело-партнер обеспечивает положительный сигнал макрофагам посредством связывания и активации FcγR1. В отличие от этого, аберрантный фагоцитоз (антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ)) аутологичных Т-клеток и моноцитов в отношении собственных клеточных мишеней аутологичными макрофагами не происходит при обработке SIRPAB-11-K322A, как описано выше. Отсутствие АЗКФ при обработке SIRPAB-11-K322A, что желательно, вероятно, связано с наличием других механизмов, подавляющих фагоцитоз собственных клеток-мишеней.

5.9.4 **Активность единственного средства**

[00665] Эффект одного только SIRPAB-11-K322A в стимулировании фагоцитоза, опосредованного макрофагами, далее оценивали в трех опухолевых линиях AML и культурах из двух моделей PDX AML. Поверхностная экспрессия SIRPα на этих клетках была подтверждена проточным цитометрическим анализом связывания с использованием антитела SIRPAB-11-IgG4PE.

[00666] В анализах фагоцитоза с единственным средством обработка SIRPAB-11-K322A продемонстрировала концентрационно-зависимое увеличение процента фагоцитотических макрофагов с максимальным процентным диапазоном: для MOLM 13, 28-31, n=3 донорных макрофага (**Фиг. 15A**, донор 345); для OCI-AML2, от 45 до 74, n=3 донорных макрофага (**Фиг. 15B**, донор 345); для MV-4-11, от 26 до 48, n=3 донорных макрофага (**Фиг. 15C**, донор 345). Средние значения EC50 для фагоцитоза единственным средством составили 0,24 нМ, 0,03 нМ и 0,41 нМ для клеточных линий MOLM-13, OCI-AML-2 и MV-4-11 AML, соответственно (**Таблица 25**). Обработка единственным средством антителом SIRPAB-11-IgG4PE продемонстрировала меньший фагоцитоз в трех клеточных линиях AML по сравнению с SIRPAB-11-K322A при тестировании в диапазоне концентраций от 0,01 нМ до 66,67 нМ. Однако при тестировании при одной высокой концентрации разница между обработкой SIRPAB-11-K322A и антителом SIRPAB-11-IgG4PE была менее четкой.

Таблица 25: Полумаксимальные эффективные концентрации в анализах комбинированного фагоцитоза с единственным средством

	EC_{50} SIRPAB-11-K322A (нМ)											
	MOLM-13				OCI-AML2				MV-4-11			
Донор	**345**	**226**	**358**	**M**	**345**	**226**	**358**	**M**	**345**	**226**	**358**	**M**
EC_{50}	0,57	0,10	0,04	0,24	0,04	0,02	0,02	0,03	0,55	0,13	0,56	0,41

EC_{50}=полумаксимальная концентрация; M=среднее; MOLM-13, MV-4-11 и OCI-AML2=клеточные линии острого миелоидного лейкоза (AML).

[00667] Во всех случаях совместные культуры клеточных линий AML и макрофагов, обработанных антителом IgG1 изотипического контроля-K322A и IgG4 изотипического контроля-4PE, демонстрировали низкий уровень фагоцитоза.

[00668] Дополнительные данные по фагоцитозу единственным средством были получены с использованием культур образцов 2-х пациентов с AML, полученных из

моделей PDX (**Фиг. 15D** и **15E**). Обработка SIRPAB-11-K322A продемонстрировала увеличение фагоцитотических макрофагов с максимальными значениями 63,35% и 71,54% для моделей PDX AML P1202 и P5478, соответственно. Как и в случае с клеточными линиями AML, лечение единственным средством с антителом SIRPAB-11-IgG4PE показало меньший фагоцитоз по сравнению с максимальными значениями SIRPAB-11-K322A (35,38% и 45,08% фагоцитотических макрофагов для моделей PDX P1202 и P5478, соответственно, обработанных антителом SIRPAB-11-IgG4PE). Эти уровни все еще превышали уровень IgG1 изотипического контроля-K322A в обоих случаях.

5.9.5 **Анализ фагоцитоза яванского макака**

[00669] Функциональное значение связывания SIRPAB-11-K322A с SIRPα яванского макака определяли путем оценки фагоцитотической активности SIRPAB-11-K322A-обработанных моноцитарных макрофагов яванского макака против линии опухолевых клеток человека OCI-AML2. Моноциты, полученные из PBMC яванского макака, дифференцировали в макрофаги и использовали в анализах совместного культивирования (n=2). Опухолевые клетки были помечены карбоксифлуоресцеин диацетат-сукцинимидильным сложным эфиром (CFSE), опсонизированы SIRPAB-11-K322A (0,067 нМ - 66,7 нМ) или контрольными антителами (0,067-66,7 нМ) и добавлены в анализ совместного культивирования с 40 000 макрофагов яванского макака и одинаковыми концентрациями SIRPAB-11-K322A, IgG1 изотипического контроля-K322A или CD47 IgG1 на 1 или 3 часа. В конце инкубационного периода макрофаги помечали анти-CD14-аллофикоцианином (APC) и количественно оценивали с помощью многопараметрической визуализации. Процентное содержание фагоцитотических макрофагов рассчитывали как количество макрофагов, которые были положительными для обоих красителей, деленное на общее количество макрофагов.

[00670] Обработка макрофагов яванского макака с SIRPAB-11-K322A значительно увеличивала фагоцитоз опухолевых клеток человека OCI-AML2 по сравнению с отрицательным контролем, IgG1 изотипического контроля-K322A ($p < 0,0001$, 1 час инкубации; **Фиг. 15F**). Не было никакой разницы в процентном содержании фагоцитотических макрофагов между двумя протестированными концентрациями SIRPAB-11-K322A. Повторный анализ с макрофагами от другого донора-яванского макака дал аналогичные результаты ($p < 0,0001$ для 0,067 нМ, 0,67 нМ, 6,67 нМ или 66,7 нМ SIRPAB-11-K322A по сравнению с соответствующим по концентрации изотипического контроля, IgG1 изотипического контроля-K322A при инкубации в течение 1 часа). Эти данные свидетельствуют о том, что связывание SIRPAB-11-K322A с SIRPα яванского макака имеет функциональный эффект в стимуляции фагоцитотической активности макрофагов, совместно культивированных с опухолевыми клетками.

5.10 **Пример 10: Открытое исследование фазы 1 для подбора дозы SIRPAB-11-K322A, моноклонального антитела, направленного против SIRPα, отдельно и в комбинации с цетуксимабом у пациентов с распространенными солидными опухолями**

[00671] Антитело SIRPAB-11-K322A будут исследовать при распространенных солидных опухолях (часть A, стадия 1 и часть B), а также при распространенном колоректальном раке (CRC) и/или распространенной плоскоклеточной карциноме головы и шеи (SCCHN) (часть A, стадия 2 и часть B).

5.10.1 **Цели**

[00672] **Первичные цели:** • Определить безопасность и переносимость SIRPAB-11-K322A отдельно и в комбинации с цетуксимабом. • Определить непереносимую дозу (NTD), максимальную переносимую дозу (MTD) и/или рекомендуемую дозу для фазы 2 (RP2D) SIRPAB-11-K322A отдельно и в комбинации с цетуксимабом.

[00673] **Вторичные цели:** • Предоставить информацию о предварительной эффективности SIRPAB-11-K322A отдельно и в комбинации с цетуксимабом. • Охарактеризовать фармакокинетику (ФК) SIRPAB-11-K322A. • Оценить наличие, частоту и функциональное влияние антител SIRPAB-11-K322A (ADA).

5.10.2 **Дизайн исследования**

[00674] Данное исследование представляет собой открытое клиническое исследование фазы 1 с увеличением дозы (часть A) и расширением дозы (часть B), первое клиническое исследование SIRPAB-11-K322A на людях с распространенными солидными опухолями. Часть исследования с увеличением дозы (часть A) будут проводить в две стадии с использованием байесовской методологии. На стадии 1 будет проведена оценка безопасности и переносимости увеличенных доз SIRPAB-11-K322A, вводимых внутривенно (IV), для определения MTD, NTD и/или RP2D SIRPAB-11-K322A у пациентов с распространенным неоперабельным солидным раком. На стадии 2 будет проведена оценка безопасности и переносимости увеличенных доз SIRPAB-11-K322A в комбинации с еженедельным цетуксимабом, вводимых внутривенно, для определения NTD, MTD и/или RP2D SIRPAB-11-K322A плюс цетуксимаб у пациентов с распространенным CRC и/или SCCHN.

[00675] В части увеличения дозы (часть B) будет проведена дальнейшая оценка безопасности и эффективности SIRPAB-11-K322A, применяемого на уровне или ниже MTD стадии 2 в комбинации с цетуксимабом, в отобранных когортах увеличения дозы, включающих до примерно 20 оцениваемых субъектов в каждой, с целью определения RP2D. В когортах увеличения дозы части B могут быть испытаны различные дозы и/или схемы применения SIRPAB-11-K322A на основе безопасности и переносимости, определенных в части A. Когорты увеличения дозы части B могут включать субъектов с распространенным CRC (KRAS/NRAS/BRAF дикого типа), CRC (KRAS/NRAS/BRAF мутант), SCCHN и/или другими распространенными солидными опухолями. В части B могут быть рассмотрены дополнительные когорты испытуемых с распространенными солидными опухолями. Все лечение будет проводиться 28-дневными циклами до клинически значимого прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или решения субъекта/врача о выходе из исследования.

[00676] На стадии 1 (часть A) каждый испытуемый получит назначенную дозу

препарата SIRPAB-11-K322A в день 1 цикла 1 и далее еженедельно (1 р/нед). Начальная доза (стадия 1, когорта 1) препарата SIRPAB-11-K322A составит 0,3 мг/кг. Если начальная доза SIRPAB-11-K322A является непереносимой, можно рассмотреть возможность применения более низкой дозы. Начальное увеличение дозы в каждой когорте будет приблизительно 3-кратным.

[00677] Решение о переходе к стадии 2 будет приниматься на основании данных о безопасности, переносимости, ФК, ФД и ADA, наблюдаемых по крайней мере в 1 когорте стадии 1. Стадия 2 начинается после определения переносимости по крайней мере доз в одной когорты на стадии 1, и поэтому может начаться до установления MTD или NTD на стадии 1. Начальная доза (стадия 2, когорта 1) SIRPAB-11-K322A должна быть определена как переносимая на стадии 1. Если начальная доза SIRPAB-11-K322A плюс цетуксимаб является непереносимой, можно рассмотреть возможность применения более низкой дозы SIRPAB-11-K322A. Последующие когорты на стадии 2 будут открыты для набора только после того, как будет установлена переносимость соответствующих когорт дозирования на стадии 1. На стадии 2 дозировка цетуксимаба будет фиксированной и будет вводиться в день 1 цикла 1 (400 мг/м^2 в/в) и далее еженедельно (250 мг/м^2 в/в 1 р/нед).

[00678] В ходе увеличения дозы решение об оценке дополнительных субъектов в рамках когорты дозы, следующем более высоком уровне дозы, промежуточных уровнях дозы, альтернативном интервале дозирования или объявлении MTD будет приниматься на основе модели логистической регрессии Байеса, клинических и лабораторных данных о безопасности (как данных об ограничивающей дозу токсичности [DLT], так и данных о безопасности, не связанной с DLT), ФК, ФД и ADA для данного уровня дозы. Частота дозирования SIRPAB-11-K322A может быть уменьшена на основании анализа ФК и/или ФД от данного уровня дозы. Если частота доз снижается, то общая интенсивность дозы последующей когорты не будет превышать 3-кратную.

[00679] В части A, после введения первой дозы в любой когорте, субъекты в каждой когорте должны наблюдаться не менее 28 дней (цикл 1, дни с 1 по 28, окно DLT), прежде чем можно будет начать следующую когорту с более высокой, определенной протоколом дозой. Для первых двух испытуемых будет использован недельный интервал между первым и последующим приемом дозы для наблюдения за проявлениями острой токсичности. После первых двух испытуемых между первичным дозированием новых испытуемых в данной когорте будет проходить 1 день.

[00680] У субъектов, получающих монотерапию SIRPAB-11-K322A (часть A, стадия 1), субъект, у которого оценивается DLT, определяется как тот, который: • Получил не менее 3 из 4 полных доз SIRPAB-11-K322A в течение цикла 1, дни с 1 по 28 (дозирование 1 р/нед) (или не менее 75% от общей запланированной интенсивности доз цикла 1), не испытав DLT, или • Подвергался проявлению DLT после получения хотя бы одной дозы SIRPAB-11-K322A или ее фракции во время цикла 1, дни с 1 по 28.

[00681] У субъектов, получающих SIRPAB-11-K322A в комбинации с

цетуксимабом (часть A, стадия 2), субъект, у которого оценивается DLT, определяется как тот, который: • Получил не менее 3 из 4 полных доз цетуксимаба и не менее 3 из 4 полных доз SIRPAB-11-K322A в течение цикла 1, дни с 1 по 28 (или не менее 75% от общей запланированной интенсивности доз цетуксимаба и SIRPAB-11-K322A в цикле 1), не испытав DLT, или • Подвергался проявлению DLT после получения хотя бы одной дозы SIRPAB-11-K322A или ее фракции во время цикла 1, дни с 1 по 28.

[00682] Субъекты, не подлежащие оценке в отношении DLT, будут заменены. Дополнительные субъекты в любой когорте могут быть включены в исследование для более точной характеристики ФК, ФД или MTD в соответствии с BLRM.

[00683] После завершения увеличения дозы (часть A) отобранные когорты, включающие примерно 20 субъектов, оцениваемых по эффективности в каждой когорте, будут получать SIRPAB-11-K322A в комбинации с цетуксимабом. Расширение может происходить при MTD, установленной в фазе увеличения дозы комбинированного препарата с цетуксимабом, и/или при более низкой дозе, или при альтернативном переносимой схеме дозирования на основе анализа данных по безопасности, ПК, ПД и ADA. Когорты могут включать субъектов с прогрессирующим, неоперабельным CRC (KRAS, NRAS или мутант BRAF), CRC (KRAS, NRAS или BRAF дикого типа), SCCHN и/или прогрессирующими солидными опухолями. У всех субъектов с CRC должен быть определен генный статус опухоли на предмет мутаций *RAS (KRAS и NRAS)* и BRAF (V600E) (отдельно или в составе панели секвенирования следующего поколения). Мутации RAS определяются как соматические мутации в экзоне 2 (кодоны 12 и 13), экзоне 3 (кодоны 59 и 61) и экзоне 4 (кодоны 117 и 146) либо KRAS, либо NRAS. Тестирование на мутации KRAS, NRAS и BRAF в Соединенных Штатах должно проводиться только в лабораториях, сертифицированных в соответствии с поправками 1988 года о совершенствовании клинических лабораторий (CLIA-88) как имеющие право проводить в высшей степени сложные клинические лабораторные (молекулярно-патологические) исследования. Мутационный статус будет подтвержден после зачисления испытуемых в программу центральным лабораторным исследованием.

[00684] Исследование будет проводиться в соответствии с требованиями надлежащей клинической практики (GCP) Международной конференции по гармонизации (ICH).

5.10.3 **Популяция для исследования**

[00685] В исследование будут включены субъекты (мужчины или женщины) в возрасте ≥ 18 лет с распространенным солидным раком, включая распространенный CRC и распространенную SCCHN, которые прогрессировали на фоне стандартной противораковой терапии (или не могли ее переносить из-за сопутствующих заболеваний или неприемлемой токсичности), или для которых не существует другой утвержденной традиционной терапии.

[00686] В исследовании примут участие около 140 человек с распространенным солидным раком. В части A будет зарегистрировано около 60 испытуемых (включая

когорты увеличения дозы на стадии 1 и стадии 2 в количестве приблизительно от 3 до 6 оцениваемых субъектов в каждой). В части В фазы расширения дозы могут быть зарегистрированы до 20 субъектов в 4 когортах (всего около 80 субъектов).

5.10.4 **Продолжительность исследования**

[00687] Ожидается, что полная регистрация займет примерно 30 месяц до завершения (18 месяцев для части А и 12 месяца для части В). Ожидается, что завершение активного лечения и последующее наблюдение после лечения займет дополнительно от 6 до 12 месяцев. Ожидается, что все исследование будет длиться примерно 42 месяца.

[00688] Окончание испытания определяется как дата последнего визита последнего субъекта с целью завершения наблюдения после лечения или дата получения последнего результата наблюдения от последнего субъекта, который требуется для первичного, вторичного и/или исследовательского анализа, как указано в протоколе, в зависимости от того, что наступит позднее.

5.10.5 **Исследуемые схемы лечения**

[00689] Исследуемый препарат (ИП), SIRPAB-11-K322A, будет поставляться для в/в введения.

[00690] Для снижения риска развития реакций, связанных с инфузией (IRR), в цикле 1 требуется премедикация жаропонижающим и антигистаминным препаратом. Если у испытуемого не возникает IRR во время цикла 1, то премедикацию можно прекратить для последующих циклов лечения. Для субъектов, получающих цетуксимаб, премедикацию не нужно повторять перед дозированием SIRPAB-11-K322A. Лечение SIRPAB-11-K322A будет продолжаться до клинически значимого прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или решения субъекта/инвестора о выходе из исследования.

[00691] Субъектам, получающим цетуксимаб в комбинации с SIRPAB-11-K322A, цетуксимаб будет вводиться (согласно листку-вкладышу и стандартной институциональной практике) в день 1 цикла 1 (400 мг/м^2 в/в в виде 120-минутной инфузии) и еженедельно после этого (250 мг/м^2 в/в в течение 60 минут). Субъекты будут получать инфузию цетуксимаба до начала инфузии SIRPAB-11-K322A в дни приема обоих препаратов. Субъекты, получающие цетуксимаб, должны получить премедикацию антагонистом H1 (например, 50 мг дифенгидрамина в/в) за 30-60 минут до приема первой дозы. Дополнительная премедикация, например, кортикостероидом, может быть назначена в соответствии со стандартом лечения в учреждении и информацией о стране-производителе препарата цетуксимаб. Для субъектов с IRR степени 2 в анамнезе, которыми ранее была проведена инфузия цетуксимаба, рекомендуется премедикация кортикостероидами (например, дексаметазоном 10 мг или его эквивалентом). Для последующих инфузий цетуксимаба следует назначать премедикацию на основании клинического заключения и наличия/тяжести предшествующих IRR. Для пациентов, у которых наблюдаются IRR степени 1 или 2, а также несерьезные IRR степени 3, скорость инфузии цетуксимаба должна быть снижена на 50%. При серьезных инфузионных

реакциях, требующих медицинского вмешательства и/или госпитализации, прием цетуксимаба должен быть немедленно и навсегда прекращен. Снижение дозы при угревой сыпи степени 3 или 4 допускается согласно листку-вкладышу к препарату цетуксимаб. См. этикетку препарата эрбитукс, одобренную FDA, идентификационный номер 4258364, пересмотренную в мае 2018 года, раздел 2.4, по адресу accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/125084Orig1s268lbl.pdf.

[00692] В рамках части B расширения дозы, на основании оценок безопасности, ФК, ФД и ADA, полученных в ходе увеличения дозы одного средства SIRPAB-11-K322A и комбинированного препарата с цетуксимабом, субъекты могут получать SIRPAB-11-K322A в MTD и/или в более низкой дозе, а также в режиме 1 р/нед, 2 р/нед или альтернативной схемы дозирования.

5.10.6 **Обзор ключевых показателей оценки эффективности**

[00693] Первичной переменной эффективности является частота ответов опухоли на лечение. Эффективность будет оцениваться после 2, 4 и 6 циклов; и далее каждые 3 цикла. Всех подлежащих лечению субъектов будут включать в анализы эффективности. Для солидных опухолей оценка будет основана на критериях оценки ответа при солидных опухолях (RECIST 1.1) (Eisenhauer EA, et al. Eur J Cancer 2009;45(2):228-247) в качестве первичного метода, а также модифицированном RECIST 1.1 для иммуноориентированной терапии (iRECIST) (Seymour L, et al. Lancet Oncol. 2017;18:e143-e152) в качестве дополнительного исследовательского метода.

[00694] Будет представлен описательный анализ доказательств противоопухолевой активности на основе клинических, лабораторных и радиографических оценок, включающий оценку целевого поражения, нецелевого поражения, нового поражения и общего ответа. Будут оцениваться как подтвержденные, так и неподтвержденные ответы по RECIST 1.1.

[00695] Основной переменной эффективности для части A будет частота объективного ответа (ЧОО). Дополнительные переменные эффективности, подлежащие анализу, включают время до ответа и продолжительность ответа.

[00696] Для части B анализируемые переменные эффективности включают ЧОО, время до ответа, продолжительность ответа, выживаемость без прогрессирования (ВБП) и общую выживаемость (ОВ).

[00697] Если лечение прекращается по причинам, отличным от прогрессирования заболевания, начала новой противоопухолевой терапии или отзыва согласия на участие в исследовании в целом, испытуемым будет предложено продолжить оценку опухоли в соответствии с указанной схемой оценки опухоли до прогрессирования заболевания и/или начала новой системной противоопухолевой терапии. Выживаемость будет определяться после прогрессирования заболевания, примерно каждые 12 недель в течение 1 года. Кроме того, после прогрессирования заболевания будет проводиться сбор противораковых препаратов.

[00698] Переменные эффективности станут зрелыми, когда последний субъект в

каждой когорте выйдет из исследования или завершит 6 циклов.

[00699] Первичной переменной эффективности для части A является ЧОО. Для части B анализируемые переменные эффективности включают ЧОО, время до ответа, продолжительность ответа, ВБП и ОВ. Будут сообщены точечные оценки и 2-сторонние 95% доверительные интервалы для ЧОО. Для определения времени до наступления конечных точек будет проведен анализ выживаемости по методу Каплана-Мейера.

5.10.7 **Критерии включения**

[00700] Субъекты должны удовлетворять следующим критериям для зачисления в исследование:

1. Субъект должен понимать и добровольно подписать форму информированного согласия (ФИС) до проведения каких-либо связанных с исследованием оценок/процедур.

2. Возраст субъекта (мужчины или женщины) ≥ 18 лет на момент подписания ICF.

3. Субъект должен прогрессировать на фоне стандартной противораковой терапии (или не могли ее переносить из-за сопутствующих заболеваний или неприемлемой токсичности), или для которых не существует другой утвержденной традиционной терапии, а также иметь гистологическое или цитологическое подтверждение:

В части A, стадия 1, распространенным неоперабельным солидным опухолям.

В части A, стадия 2, распространенному неоперабельному колоректальному раку или плоскоклеточной карциноме головы и шеи.

В части B,

Когорта 1: прогрессирующему неоперабельному колоректальному раку с молекулярным подтверждением мутации в RAS ((KRAS или NRAS) или BRAF (V600E).Мутации RAS определяются как соматические мутации в экзоне 2 (кодоны 12 и 13), экзоне 3 (кодоны 59 и 61) и экзоне 4 (кодоны 117 и 146) либо KRAS, либо NRAS.

Когорта 2: прогрессирующему неоперабельному колоректальному раку с RAS дикого типа (без соматических мутаций в экзонах 2, 3 и 4 KRAS или NRAS), и BRAF ДТ для V600E.

Когорта 3: прогрессирующей неоперабельной плоскоклеточной карциноме головы и шеи.

Когорта 4: прогрессирующим неоперабельным солидным опухолям.

4. Субъект дает согласие на получение архивной опухолевой ткани, фиксированной формалином погруженной в парафин (FFPE), либо в виде опухолевых блоков, либо в виде срезанных/залитых образцов.

5. Для субъектов, участвующих только в когортах интенсивной ФД части A и части B, субъект дает согласие и имеет доступ к опухоли для проведения парной биопсии опухоли во время скрининга и цикла 1.

6. Субъект должен иметь по крайней мере один участок измеримой болезни, как определено RECIST v1.1.

7. Субъект имеет ООС по ECOG равную 0 или 1.

8. Субъекты должны иметь следующие лабораторные показатели:

Абсолютное количество нейтрофилов (АКН) ≥ 1,5 x 10^9/л без поддержки факторами роста в течение 7 дней (14 дней, если используется пегфилграстим).

Уровень гемоглобина (Hgb)≥ 8 г/дл.

Уровень тромбоцитов (plt) ≥ 75×10^9/л без переливания в течение 7 дней.

Аспартатаминотрансфераза (АСТ/СГОТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ/СГПТ) ≤ 2,5 x верхняя граница нормы (ВГН) или ≤ 5,0 x ВГН при наличии опухоли печени.

Сывороточный билирубин ≤ 1,5 x ULN.

Расчетный клиренс сывороточного креатинина ≥ 45 мл/мин по уравнению Кокрофта-Голта или измеренный клиренс креатинина с помощью 24-часового сбора мочи.

Международное нормализованное соотношение (МНС) < 1,5 x ВГН и частичное тромбопластиновое время (ЧТВ) < 1,5 x ВГН.

9. Женщины со способностью к деторождению (ЖСДР) должны:

Либо взять на себя обязательства по истинному воздержанию от гетеросексуальных контактов (что должно проверяться ежемесячно и регистрироваться в первичной документации), либо согласиться использовать и быть в состоянии соблюдать, по крайней мере, два эффективных метода контрацепции (оральные, инъекционные или имплантируемые гормональные контрацептивы; перевязка труб; внутриматочная спираль; барьерный контрацептив со спермицидом; или партнер после вазэктомии), один из которых должен быть барьерным, от подписания ICF, во время участия в исследовании, во время перерывов в приеме дозы и в течение 56 дней после приема последней дозы SIRPAB-11-K322A; и

Иметь два отрицательных теста на беременность до начала приема SIRPAB-11-K322A. Они должны дать согласие на постоянное тестирование на беременность в течение курса исследования и 56 суток после окончания исследуемого лечения. Это требуется, даже если субъект практикует полное воздержание от гетеросексуальных контактов. Субъект не может получать SIRPAB-11-K322A до тех пор, пока результат теста на беременность не будет отрицательным; и

Иметь отрицательный сывороточный тест на беременность (чувствительность не менее 25 мМЕ/мл) во время скрининга.

Иметь отрицательный сывороточный тест или тест мочи на беременность в течение 72 часов до 1-го дня 1-го цикла лечения и в течение 72 часов до 1-го дня каждого последующего цикла (обратите внимание, что скрининговый сывороточный тест на беременность может быть использован в качестве теста до 1-го дня лечения, если он был проведен в течение предшествующих 72 часов). Тест на беременность в сыворотке или моче также должен быть проведен в конце исследования для каждой ЖСДР; и

Избегать зачатия в течение 56 дней после приема последней дозы SIRPAB-11-K322A.

Женщины со способностью к деторождению, получающие цетуксимаб, должны использовать эффективную контрацепцию во время лечения цетуксимабом и в течение 2 месяцев после приема последней дозы цетуксимаба.

10. Мужчины должны практиковать истинное воздержание (которое должно пересматриваться ежемесячно и регистрироваться в первичной документации) или согласиться использовать презерватив (рекомендуется латексный презерватив) во время сексуального контакта с беременной женщиной или ЖСДР и избегать зачатия с момента подписания ICF, во время участия в исследовании, во время перерывов в приеме дозы и в течение как минимум 56 дней после прекращения приема SIRPAB-11-K322A, даже если он перенес успешную вазэктомию.

11. Субъект готов и способен придерживаться режима посещения при исследовании и других требований по протоколу.

5.10.8 **Критерии невключения**

[00701] Наличие любого из следующего будет исключать регистрацию субъекта:

1. Субъект получал предшествующую исследовательскую терапию, направленную на CD47 или SIRPα.

2. У субъекта рак с симптоматическим поражением центральной нервной системы.

3. Субъект принимает хроническую системную иммуносупрессивную терапию или кортикостероиды (например, преднизон или эквивалент, превышающий общую дозу 140 мг за последние 14 дней). Исключением из этого критерия являются интраназальные, ингаляционные, топические или местные инъекции кортикостероидов (например, внутрисуставные инъекции) или стероиды в качестве премедикации при реакциях гиперчувствительности (например, премедикация при компьютерной томографии [КТ]).

4. Субъекты с застойной сердечной недостаточностью (ЗСН) III или IV класса или тяжелой неишемической кардиомиопатией, нестабильной стенокардией, инфарктом миокарда или желудочковой аритмией в течение предыдущих 6 месяцев.

5. Субъект получал предшествующее системное лечение против рака или исследовательские способы воздействия в течение ≤ 5 периодов полужизни или 4 недель до начала приема препарата SIRPAB-11-K322A, в зависимости от того, что короче.

6. Субъект перенес серьезную операцию за ≤ 2 недели до начала приема препарата SIRPAB-11-K322A. Субъекты должны оправиться от любых клинически значимых последствий недавней хирургической операции.

7. Субъектом является беременная или кормящая женщина.

8. У субъекта имеется известная инфекция вируса иммунодефицита человека (ВИЧ).

9. У субъекта известна хроническая, активная инфекция гепатита B или C (HBV/HCV).

10. Продолжающееся лечение с применением постоянного терапевтического дозирования антикоагулянтов (например, варфарина, низкомолекулярного гепарина, ингибиторов фактора Xa)

11. Аутоиммунная гемолитическая анемия или аутоиммунная тромбоцитопения в анамнезе.

12. Случай в анамнезе одновременных вторичных форм рака, требующих

активного длительного системного лечения.

13. У субъекта имеется любое значимое медицинское состояние, лабораторная аномалия или психиатрическое заболевание, которые могут препятствовать субъекту в участии в исследовании.

14. У субъекта имеется любое состояние, в том числе наличие лабораторных аномалий, которое подвергает субъекта неприемлемому риску, если он/она должны были участвовать в исследовании.

15. Субъект страдает от любого состояния, при котором нарушается возможность интерпретировать данные исследования.

16. Для субъектов, получающих цетуксимаб, известная в анамнезе непереносимость цетуксимаба, включая инфузионные реакции 3 или 4 степени; тяжелая, стойкая угреподобная сыпь, требующая прекращения приема цетуксимаба; или интерстициальное заболевание легких.

17. Для субъектов, участвующих в оценках МРТ с ферумокситолом в когортах интенсивного ФД части А:

Аллергическая реакция на любой внутривенный препарат железа в анамнезе.

Известная повышенная чувствительность к ферумокситолу или любому из его компонентов (например, железу, декстрану или полисахаридам с молекулярной массой ≥ 1000 дальтон).

Любые противопоказания к проведению МРТ, например, наличие вживленных металлических материалов/устройств.

Известный в анамнезе гемохроматоз с перегрузкой железом.

5.11 **Пример 11: Открытое исследование фазы 1 для подбора дозы SIRPAB-11-K322A, моноклонального антитела, направленного против SIRPα, отдельно и в комбинации с цетуксимабом или ритуксимабом у пациентов с распространенными солидными опухолями**

[00702] Антитело SIRPAB-11-K322A будут исследовать при распространенных солидных опухолях (Часть A, Стадия 1 и Часть B), при распространенном колоректальном раке (CRC) и/или распространенной плоскоклеточной карциноме головы и шеи (SCCHN) (Часть A, Стадия 2 и Часть B), а также при CD20-положительных НХЛ, таких как DLBCL (включая рецидивирующую DLBCL и рефрактерную DLBCL), фолликулярной лимфоме (включая степени 1, степени 2, степени 3a, степени 3b, рецидивирующую и рефрактерную фолликулярную лимфому), лимфоме маргинальной зоны и лимфоме из клеток мантии. (Часть A, стадия 3 и Часть C).

5.11.1 **Цели**

[00703] **Первичные цели:** • Определить безопасность и переносимость SIRPAB-11-K322A отдельно и в комбинации с цетуксимабом или ритуксимабом. • Определить непереносимую дозу (NTD), максимальную переносимую дозу (MTD) и/или рекомендуемую дозу для фазы 2 (RP2D) SIRPAB-11-K322A отдельно и в комбинации с цетуксимабом или ритуксимабом.

[00704] **Вторичные цели:** • Предоставить информацию о предварительной эффективности SIRPAB-11-K322A отдельно и в комбинации с цетуксимабом или ритуксимабом. • Охарактеризовать фармакокинетику (ФК) SIRPAB-11-K322A. • Оценить наличие, частоту и функциональное влияние антител SIRPAB-11-K322A (ADA).

5.11.2 **Дизайн исследования**

[00705] Данное исследование представляет собой открытое клиническое исследование фазы 1 с увеличением дозы (части A) и расширением дозы (часть B и C), первое клиническое исследование SIRPAB-11-K322A на людях с распространенными солидными и гематологическими опухолями. Часть исследования с увеличением дозы (часть A) будут проводить в три стадии с использованием байесовской методологии. На стадии 1 будет проведена оценка безопасности и переносимости увеличенных доз SIRPAB-11-K322A, вводимых внутривенно (IV), для определения MTD, NTD и/или RP2D SIRPAB-11-K322A у пациентов с распространенным неоперабельным солидным раком. На стадии 2 будет проведена оценка безопасности и переносимости увеличенных доз SIRPAB-11-K322A в комбинации с еженедельным цетуксимабом, вводимых внутривенно, для определения NTD, MTD и/или RP2D SIRPAB-11-K322A плюс цетуксимаб у пациентов с распространенным CRC и/или SCCHN. На стадии 3 будут оценивать безопасность и переносимость увеличенных доз SIRPAB-11-K322A в комбинации с ритуксимабом, оба препарата вводят в/в, для установления MTD, NTD и/или RP2D SIRPAB-11-K322A плюс ритуксимаб у пациентов с CD20-положительными НХЛ, включая DLBCL, фолликулярную лимфому степени 1, 2 и 3a, лимфому маргинальной зоны и лимфому из клеток мантии.

[00706] В части увеличения дозы (часть B) будет проведена дальнейшая оценка безопасности и эффективности SIRPAB-11-K322A, применяемого на уровне или ниже MTD стадии 2 в комбинации с цетуксимабом, в отобранных когортах увеличения дозы, включающих до примерно 20 оцениваемых субъектов в каждой, с целью определения RP2D.

[00707] В когортах увеличения дозы части B могут быть испытаны различные дозы и/или схемы применения SIRPAB-11-K322A на основе безопасности и переносимости, определенных в части A. Когорты увеличения дозы части B могут включать субъектов с распространенным CRC (KRAS/NRAS/BRAF дикого типа), CRC (KRAS/NRAS/BRAF мутант), SCCHN и/или другими распространенными солидными опухолями. В части B могут быть рассмотрены дополнительные когорты испытуемых с распространенными солидными опухолями.

[00708] В рамках расширения дозы части C будет проведена дальнейшая оценка безопасности и эффективности SIRPAB-11-K322A, применяемого на уровне или ниже MTD стадии 3 SIRPAB-11-K322A в комбинации с ритуксимабом в отдельных когортах расширения, включающих до 20 (фолликулярная лимфома) или 30 (DLBCL) оцениваемых субъектов в каждой, с целью определения RP2D для комбинации SIRPAB-11-K322A и ритуксимаба.

[00709] В расширенных когортах части С могут быть также испытаны различные дозы и/или схемы применения SIRPAB-11-K322A на основе безопасности и переносимости, определенных в части А. Когорты расширения части С могут включать рецидивирующую и/или рефрактерную DLBCL и/или фолликулярную лимфому (ФЛ) степени 1,2 и 3а.

[00710] Все лечение будет проводиться 28-дневными циклами до клинически значимого прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или решения субъекта/врача о выходе из исследования.

[00711] На стадии 1 (часть А) каждый испытуемый получит назначенную дозу препарата SIRPAB-11-K322A в день 1 цикла 1 и далее еженедельно (1 р/нед). Начальная доза (стадия 1, когорта 1) препарата SIRPAB-11-K322A составит 0,3 мг/кг. Если начальная доза SIRPAB-11-K322A является непереносимой, можно рассмотреть возможность применения более низкой дозы. Начальное увеличение дозы в каждой когорте будет приблизительно 3-кратным.

[00712] Решение о переходе к стадии 2 будут принимать на основании данных о безопасности, переносимости, ФК, ФД и ADA, наблюдаемых как минимум на двух стадиях стадии 1. Стадия 2 или 3 может начаться до установления MTD или NTD на стадии 1. Начальная доза (стадия 2, когорта 1) SIRPAB-11-K322A на стадии 2 будет по крайней мере на один уровень дозы ниже дозы, которая была определена как переносимая на стадии 1. Стадия 3 начнется после прохождения как минимум двух уровней дозы на стадии 1. Начальная доза (стадия 3, когорта 1) SIRPAB-11-K322A на стадии 3 будет не выше, чем самая высокая доза, которая была определена как переносимая на стадии 1.

[00713] Если начальная доза SIRPAB-11-K322A в комбинации с цетуксимабом или ритуксимабом является переносимой, можно рассмотреть возможность применения более низкой дозы SIRPAB-11-K322A. Последующие когорты на стадии 2 или 3 будут открыты для набора только после того, как будет установлена переносимость соответствующих когорт дозирования на стадии 1.

[00714] На стадии 2 начальная доза цетуксимаба (стадия 2, когорта 1a) составит 250 мг/м^2 в/в в день 1 цикла 1, затем 150 мг/м^2 в/в еженедельно в цикле 1. Если эта сниженная доза цетуксимаба переносится в течение одного цикла, возможно увеличение дозы у одного и того же пациента до 250 мг/м^2 в/в еженедельно. Если уровень дозы цетуксимаба на стадии 2, когорта 1a, будет признан переносимым, то во второй когорте стадии 2 (стадия 2, когорта 1b) субъекты будут получать лечение в той же дозе препарата SIRPAB-11-K322A с цетуксимабом в дозе 400 мг/м^2 в/в в день 1 цикла 1, а затем 250 мг/м^2 в/в еженедельно (400/250 мг/м^2). Если когорта 1b переносит, последующие когорты будут получать цетуксимаб (400/250 мг/м^2) с увеличением доз препарата SIRPAB-11-K322A.

[00715] На стадии 3 дозировка ритуксимаба будет фиксированной и составит 375 мг/м2 в/в. Ритуксимаб будут вводить еженедельно в течение 4 доз (дни 1, 8, 15 и 22 цикла 1), в день 1 циклов со 2 по 5 и в день 1 каждого второго цикла с 6 по 24 цикл.

[00716] В ходе увеличения дозы решение об оценке дополнительных субъектов в

рамках когорты дозы, следующем более высоком уровне дозы, промежуточных уровнях дозы, альтернативном интервале дозирования или объявлении MTD будет приниматься на основе модели логистической регрессии Байеса, клинических и лабораторных данных о безопасности (как данных об ограничивающей дозу токсичности [DLT], так и данных о безопасности, не связанной с DLT), ФК, ФД и ADA для данного уровня дозы. Частота дозирования SIRPAB-11-K322A может быть уменьшена на основании анализа ФК и/или ФД от данного уровня дозы. Если частота доз снижается, то общая интенсивность дозы последующей когорты не будет превышать 3-кратную.

[00717] В части A, после введения первой дозы в любой когорте, субъекты в каждой когорте должны наблюдаться не менее 28 дней (цикл 1, дни с 1 по 28, окно DLT), прежде чем можно будет начать следующую когорту с более высокой, определенной протоколом дозой. Для первых двух испытуемых будет использован недельный интервал между первым и последующим приемом дозы для наблюдения за проявлениями острой токсичности. После первых двух испытуемых в указанной когорте с увеличением дозы будут включать не более одного субъекта в день.

[00718] У субъектов, получающих монотерапию SIRPAB-11-K322A (часть A, стадия 1), субъект, у которого оценивается DLT, определяется как тот, который: • Получил не менее 3 из 4 полных доз SIRPAB-11-K322A в течение цикла 1, дни с 1 по 28 (дозирование 1 р/нед) (или не менее 75% от общей запланированной интенсивности доз цикла 1), не испытав DLT, или • Подвергался проявлению DLT после получения хотя бы одной дозы SIRPAB-11-K322A или ее фракции во время цикла 1, дни с 1 по 28.

[00719] У субъектов, получающих SIRPAB-11-K322A в комбинации с цетуксимабом (часть A, стадия 2) или ритуксимабом (часть A, стадия 3), субъект, у которого оценивается DLT, определяется как тот, который: • Получил не менее 3 из 4 полных доз цетуксимаба или ритуксимаба и не менее 3 из 4 полных доз SIRPAB-11-K322A в течение цикла 1, дни с 1 по 28 (или не менее 75% от общей запланированной интенсивности доз цетуксимаба, ритуксимаба и SIRPAB-11-K322A в цикле 1), не испытав DLT, или • Подвергался проявлению DLT после получения хотя бы одной дозы SIRPAB-11-K322A или ее фракции во время цикла 1, дни с 1 по 28.

[00720] Субъекты, не подлежащие оценке в отношении DLT, будут заменены. Дополнительные субъекты в любой когорте могут быть включены в исследование для более точной характеристики ФК, ФД или MTD в соответствии с BLRM.

[00721] После завершения увеличения дозы (часть A) отобранные когорты, включающие примерно 20 (солидные опухоли, фолликулярная лимфома) или 30 (DLBCL) субъектов, оцениваемых по эффективности в каждой когорте, будут получать SIRPAB-11-K322A в комбинации с цетуксимабом (часть B) или ритуксимабом (часть C). Увеличение может происходить при MTD, установленных в ходе увеличения дозы комбинированного препарата (Часть A, стадии 2 и 3) и/или при более низких дозах, или при альтернативной переносимой схеме дозирования, на основании анализа данных по безопасности, ФК, ФД и ADA.

[00722] Когорты части B могут включать субъектов с прогрессирующим, неоперабельным CRC (KRAS, NRAS или мутант BRAF), CRC (KRAS, NRAS или BRAF дикого типа), SCCHN и/или прогрессирующими солидными опухолями. У всех субъектов с CRC должен быть определен генный статус опухоли на предмет мутаций *RAS (KRAS и* NRAS) и BRAF (V600E) (отдельно или в составе панели секвенирования следующего поколения). Мутации NRAS и KRAS относятся к определенным соматическим точечным мутациям. Тестирование на мутации KRAS, NRAS и BRAF в Соединенных Штатах должно проводиться только в лабораториях, сертифицированных в соответствии с поправками 1988 года о совершенствовании клинических лабораторий (CLIA-88) как имеющие право проводить в высшей степени сложные клинические лабораторные (молекулярно-патологические) исследования. Мутационный статус будет подтвержден после зачисления испытуемых в программу центральным лабораторным исследованием.

[00723] Когорты увеличения дозы части C могут включать рецидивирующую и/или рефрактерную DLBCL, если не указано иное (NOS), и рецидивирующую и/или рефрактерную фолликулярную лимфому.

[00724] Исследование будет проводиться в соответствии с требованиями надлежащей клинической практики (GCP) Международной конференции по гармонизации (ICH).

5.11.3 **Популяция для исследования**

[00725] В исследование будут включены субъекты (мужчины или женщины) в возрасте ≥ 18 лет с распространенным солидным раком, включая распространенный CRC, распространенную SCCHN и CD20-положительную NHL, которые прогрессировали на фоне стандартной противораковой терапии (или не могли ее переносить из-за сопутствующих заболеваний или неприемлемой токсичности), или для которых не существует другой утвержденной традиционной терапии.

[00726] В исследовании примут участие до 230 человек с распространенным солидным и гематологическим раком. В части A будет зарегистрировано около 100 испытуемых (включая когорты увеличения дозы на стадиях 1, 2, 3 в количестве приблизительно от 3 до 6 оцениваемых субъектов в каждой). В части B фазы расширения дозы могут быть зарегистрированы до 20 субъектов в 4 когортах (всего около 80 субъектов). На стадии увеличения дозы части C в когорты могут быть включены до 20 субъектов с ФЛ и до 30 субъектов с DLBCL (всего около 50 субъектов).

5.11.4 **Продолжительность исследования**

[00727] Ожидается, что полная регистрация займет примерно 30 месяц до завершения (18 месяцев для части A и 12 месяца для частей B и C). Ожидается, что завершение активного лечения и последующее наблюдение после лечения займет дополнительно от 30 до 36 месяцев. Ожидается, что все исследование будет длиться примерно 66 месяца.

[00728] Окончание испытания определяется как дата последнего визита последнего субъекта с целью завершения наблюдения после лечения или дата получения последнего

результата наблюдения от последнего субъекта, который требуется для первичного, вторичного и/или исследовательского анализа, как указано в протоколе, в зависимости от того, что наступит позднее.

5.11.5 **Исследуемые схемы лечения**

[00729] Исследуемый препарат (ИП), SIRPAB-11-K322A, будет поставляться для в/в введения.

[00730] Для субъектов, у которых наблюдаются реакции, связанные с инфузией (IRR) из-за SIRPAB-11-K322A, потребуется лечение, премедикация (например, жаропонижающее, антигистаминное или кортикостероид) при последующем дозировании. Для субъектов, получающих цетуксимаб или ритуксимаб, премедикацию не нужно повторять перед дозированием SIRPAB-11-K322A. Лечение SIRPAB-11-K322A будет продолжаться до клинически значимого прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или решения субъекта/инвестора о выходе из исследования.

[00731] Субъектам, получающим цетуксимаб в комбинации с SIRPAB-11-K322A, цетуксимаб будут вводить в день 1 цикла 1 (250 или 400 мг/м^2 в/в в виде 120-минутной инфузии) и далее еженедельно (150 или 250 мг/м^2 в/в в течение 60 минут). Субъекты будут получать инфузию цетуксимаба до начала инфузии SIRPAB-11-K322A в дни приема обоих препаратов. Субъекты, получающие цетуксимаб, должны получить премедикацию антагонистом H1 (например, 50 мг дифенгидрамина в/в) за 30-60 минут до приема первой дозы. Дополнительная премедикация, например, кортикостероидом, может быть назначена в соответствии со стандартом лечения в учреждении и информацией о стране-производителе препарата цетуксимаб. Для субъектов с IRR степени 2 в анамнезе, которыми ранее была проведена инфузия цетуксимаба, рекомендуется премедикация кортикостероидами (например, дексаметазоном 10 мг или его эквивалентом). Для последующих инфузий цетуксимаба следует назначать премедикацию на основании клинического заключения и наличия/тяжести предшествующих IRR. Для пациентов, у которых наблюдаются IRR степени 1 или 2, а также несерьезные IRR степени 3, скорость инфузии цетуксимаба должна быть снижена на 50%. При серьезных инфузионных реакциях, требующих медицинского вмешательства и/или госпитализации, прием цетуксимаба должен быть немедленно и навсегда прекращен. Снижение дозы при угревой сыпи степени 3 или 4 допускается согласно листку-вкладышу к препарату цетуксимаб. См. этикетку препарата эрбитукс, одобренную FDA, идентификационный номер 4258364, пересмотренную в мае 2018 года, раздел 2.4, по адресу accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/125084Orig1s268lbl.pdf.

[00732] Субъектам, получающим ритуксимаб в комбинации с SIRPAB-11-K322A, ритуксимаб будут вводить (согласно листку-вкладышу препарата ритуксимаб (см. этикетку препарата ритуксан, одобренную FDA, идентификационный номер 4274293, пересмотренную в июне 2018 года, на сайте accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/103705s5450lbl.pdf) и стандартной институциональной практике) в фиксированной дозе 375 мг/м2 в/в в дни 1, 8, 15 и 22

цикла 1, в день 1 цикла 2-5 и в день 1 циклов 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 и 24. Субъекты будут получать инфузию ритуксимаба до начала инфузии SIRPAB-11-K322A в дни приема обоих препаратов. Субъектам, получающим ритуксимаб, перед инфузией ритуксимаба следует провести премедикацию жаропонижающим средством (*например*, ацетаминофеном 650-1000 мг) и антигистаминным препаратом (*например*, дифенгидрамином 25-50 мг или эквивалентным антигистаминным препаратом без седативного действия, например, лоратадином или цетиризином 10 мг).

[00733] В рамках расширения дозы части B и C, на основании оценок безопасности, ФК, ФД и ADA, полученных в ходе увеличения дозы SIRPAB-11-K322A в качестве одного средства и в комбинированном препарате, субъекты могут получать SIRPAB-11-K322A в MTD и/или в более низкой дозе, а также в режиме 1 р/нед, 2 р/нед или альтернативной схемы дозирования.

5.11.6 **Обзор ключевых показателей оценки эффективности**

[00734] Первичной переменной эффективности является частота ответов опухоли на лечение. Эффективность будет оцениваться после 2, 4 и 6 циклов; и далее каждые 3 цикла. Всех подлежащих лечению субъектов будут включать в анализы эффективности. Для солидных опухолей оценка будет основана на критериях оценки ответа при солидных опухолях (RECIST 1.1) (Eisenhauer EA, et al. Eur J Cancer 2009;45(2):228-247) в качестве основного метода, а также на модифицированном RECIST 1.1. для иммунной терапии (iRECIST) (Seymour L, et al. Lancet Oncol. 2017;18:e143-e152)в качестве дополнительного метода. Для НХЛ для оценки эффективности будут использовать «критерий Лугано», который включает критерии ответа Международной рабочей группы (IWG) для НХЛ (Cheson BD, et al. J Clin Oncol. 2014;32(27):3059-3068) и критерий Довиля для интерпретации сканирования фтордезоксиглюкозно-позитронно-эмиссионной томографии (ФДГ ПЭТ) (Itti E, et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2013 Sep;40(9):1312-20; Meignan M, et al. Leuk Lymphoma. 2014 Jan;55(1):31-7).

[00735] Будет представлен описательный анализ доказательств противоопухолевой активности на основе клинических, лабораторных и радиографических оценок, включающий оценку целевого поражения, нецелевого поражения, нового поражения и общего ответа. Будут оцениваться как подтвержденные, так и неподтвержденные ответы по RECIST 1.1 и критерию Лугано.

[00736] Основной переменной эффективности для части A будет частота объективного ответа (ЧОО). Дополнительные переменные эффективности, подлежащие анализу, включают время до ответа и продолжительность ответа.

[00737] Для части B и части C анализируемые переменные эффективности включают ЧОО, время до ответа, продолжительность ответа, выживаемость без прогрессирования (ВБП) и общую выживаемость (ОВ).

[00738] Если лечение прекращается по причинам, отличным от прогрессирования заболевания, начала новой противоопухолевой терапии или отзыва согласия на участие в исследовании в целом, испытуемым будет предложено продолжить оценку опухоли в

соответствии с указанной схемой оценки опухоли до прогрессирования заболевания и/или начала новой системной противоопухолевой терапии. Статус выживаемости будут определять после прогрессирования заболевания, примерно каждые 12 недель в течение до 1 года в Части B и до 2 лет в Части C. Кроме того, данные об использовании последующих противоопухолевых способов лечения, включая трансплантацию стволовых клеток, будут собирать после прогрессирования заболевания.

[00739] Переменные эффективности станут зрелыми, когда последний субъект в каждой когорте выйдет из исследования или завершит 6 циклов.

[00740] Первичной переменной эффективности для части A является ЧОО. Для части B и части C анализируемые переменные эффективности включают ЧОО, время до ответа, продолжительность ответа, ВБП и ОВ. Будут сообщены точечные оценки и 2-сторонние 95% доверительные интервалы для ЧОО. Для определения времени до наступления конечных точек будет проведен анализ выживаемости по методу Каплана-Мейера.

5.11.7 **Критерии включения**

[00741] Субъекты должны удовлетворять следующим критериям для зачисления в исследование:

1. Субъект должен понимать и добровольно подписать форму информированного согласия (ФИС) до проведения каких-либо связанных с исследованием оценок/процедур.

2. Возраст субъекта (мужчины или женщины) $\geq$ 18 лет на момент подписания ICF.

3. Субъект должен прогрессировать на фоне стандартной противораковой терапии (или не могли ее переносить из-за сопутствующих заболеваний или неприемлемой токсичности), или для которых не существует другой утвержденной традиционной терапии, а также иметь гистологическое или цитологическое подтверждение:

В части A, стадия 1, распространенным неоперабельным солидным опухолям.

В части A, стадия 2, распространенному неоперабельному колоректальному раку или плоскоклеточной карциноме головы и шеи.

В Части A, стадия 3, CD20-положительная неходжкинская лимфома (включая DLBCL, фолликулярную лимфому степени 1, 2 и 3a, лимфому маргинальной зоны и лимфому из клеток мантии)

В части B,

Когорта 1: прогрессирующему неоперабельному колоректальному раку с молекулярным подтверждением мутации в RAS ((KRAS или NRAS) или BRAF (V600E). Мутации NRAS и KRAS относятся к определенным соматическим точечным мутациям.

Когорта 2: прогрессирующему неоперабельному колоректальному раку с RAS дикого типа (без тех же соматических точечных мутаций NRAS, что и в когорте 1, и без тех же соматических точечных мутаций KRAS, что и в когорте 1) и BRAF ДТ для V600E.

Когорта 3: прогрессирующей неоперабельной плоскоклеточной карциноме головы и шеи.

Когорта 4: прогрессирующим неоперабельным солидным опухолям.

В части C

Когорта 1: DLBCL, если не указано иное (NOS; включает трансформированную DLBCL из медленно растущей гистологии, B-клеточную лимфому высокой степени с гистологией DLBCL, первичную медиастинальную B-клеточную лимфому и фолликулярную лимфому степени 3b)

Когорта 2: Фолликулярной лимфоме (степени 1, 2 и 3a)

4. Субъект дает согласие на получение архивной опухолевой ткани, фиксированной формалином погруженной в парафин (FFPE), либо в виде опухолевых блоков, либо в виде срезанных/залитых образцов.

5. Для субъектов, в частности в когортах интенсивной ФД части A, части B и части C, субъект дает согласие и имеет доступ к опухоли для проведения парной биопсии опухоли во время скрининга и цикла 1.

6. Субъекты с солидными опухолями должны иметь хотя бы один участок измеримой болезни, определяемой по RECIST v1.1. Субъекты с НХЛ должны иметь двумерно измеряемое заболевание на КТ или МРТ в поперечном сечении в соответствии с критериями Лугано/IWG (Cheson BD, et al. J Clin Oncol. 2014;32(27):3059-3068).

7. Субъект имеет ООС по ECOG равную 0 или 1.

8. Субъекты должны иметь следующие лабораторные показатели:

Абсолютное количество нейтрофилов (АКН) $\geq$ 1,5 x 10^9/л без поддержки факторами роста в течение 7 дней (14 дней, если используется пегфилграстим).

Уровень гемоглобина (Hgb)$\geq$ 8 г/дл.

Уровень тромбоцитов (plt) $\geq 75\times10^9$/л без переливания в течение 7 дней.

Аспартатаминотрансфераза (АСТ/СГОТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ/СГПТ) $\leq$ 2,5 x верхняя граница нормы (ВГН) или $\leq$ 5,0 x ВГН при наличии опухоли печени.

Сывороточный билирубин $\leq$ 1,5 x ULN.

Расчетный клиренс сывороточного креатинина $\geq$ 45 мл/мин по уравнению Кокрофта-Голта или измеренный клиренс креатинина с помощью 24-часового сбора мочи.

Международное нормализованное соотношение (МНС) < 1,5 x ВГН и частичное тромбопластиновое время (ЧТВ) < 1,5 x ВГН.

9. Женщины со способностью к деторождению (ЖСДР) должны:

Либо взять на себя обязательства по истинному воздержанию от гетеросексуальных контактов (что должно проверяться ежемесячно и регистрироваться в первичной документации), либо согласиться использовать и быть в состоянии соблюдать, по крайней мере, два эффективных метода контрацепции (оральные, инъекционные или имплантируемые гормональные контрацептивы; перевязка труб; внутриматочная спираль; барьерный контрацептив со спермицидом; или партнер после вазэктомии), один из которых должен быть барьерным, от подписания ICF, во время участия в исследовании, во время перерывов в приеме дозы и в течение 56 дней после приема последней дозы SIRPAB-11-K322A; и

Иметь два отрицательных количественных сывороточных теста или теста мочи на

беременность до начала приема SIRPAB-11-K322A. Они должны дать согласие на постоянное тестирование на беременность в течение курса исследования и 56 суток после окончания исследуемого лечения. Это требуется, даже если субъект практикует полное воздержание от гетеросексуальных контактов. Субъект не может получать SIRPAB-11-K322A до тех пор, пока результат теста на беременность не будет отрицательным; и

Иметь отрицательный количественный сывороточный тест на беременность (чувствительность не менее 25 мМЕ/мл) во время скрининга.

Иметь отрицательный сывороточный тест или тест мочи на беременность в течение 72 часов до 1-го дня 1-го цикла лечения и в течение 72 часов до 1-го дня каждого последующего цикла (обратите внимание, что скрининговый сывороточный тест на беременность может быть использован в качестве теста до 1-го дня лечения, если он был проведен в течение предшествующих 72 часов). Тест на беременность в сыворотке или моче также должен быть проведен в конце исследования для каждой ЖСДР; и

Избегать зачатия в течение 56 дней после приема последней дозы SIRPAB-11-K322A.

Женщины со способностью к деторождению, получающие цетуксимаб (часть A, стадия 2 и часть B), должны использовать эффективную контрацепцию во время лечения цетуксимабом и в течение 2 месяцев после приема последней дозы цетуксимаба.

Женщины со способностью к деторождению, получающие ритуксимаб (часть A, стадия 3 и часть C) должны использовать эффективную контрацепцию во время лечения ритуксимабом и в течение 12 месяцев после приема последней дозы ритуксимаба.

10. Мужчины должны практиковать истинное воздержание (которое должно пересматриваться ежемесячно и регистрироваться в первичной документации) или согласиться использовать презерватив (рекомендуется латексный презерватив) во время сексуального контакта с беременной женщиной или ЖСДР и избегать зачатия с момента подписания ICF, во время участия в исследовании, во время перерывов в приеме дозы и в течение как минимум 56 дней после прекращения приема SIRPAB-11-K322A, даже если он перенес успешную вазэктомию.

11. Субъект готов и способен придерживаться режима посещения при исследовании и других требований по протоколу.

5.11.8 **Критерии невключения**

[00742] Наличие любого из следующего будет исключать регистрацию субъекта:

1. Субъект получал предшествующую исследовательскую терапию, направленную на CD47 или SIRPα.

2. Лимфомы высокой степени (Беркитта или лимфобластная).

3. У субъекта рак с симптоматическим поражением центральной нервной системы (ЦНС).

4. Субъект принимает хроническую системную иммуносупрессивную терапию или кортикостероиды (например, преднизон или эквивалент, превышающий общую дозу 140 мг за последние 14 дней). Исключением из этого критерия являются интраназальные,

ингаляционные, топические или местные инъекции кортикостероидов (например, внутрисуставные инъекции) или стероиды в качестве премедикации при реакциях гиперчувствительности (например, премедикация при компьютерной томографии [КТ]).

5. Субъекты с застойной сердечной недостаточностью (ЗСН) III или IV класса или тяжелой неишемической кардиомиопатией, нестабильной стенокардией, инфарктом миокарда или желудочковой аритмией в течение предыдущих 6 месяцев.

6. Субъект получал предшествующее системное лечение против рака или исследовательские способы воздействия в течение ≤ 5 периодов полужизни или 4 недель до начала приема препарата SIRPAB-11-K322A, в зависимости от того, что короче.

7. Субъект проходил лечение CAR-T-терапией ≤ 4 недель до начала SIRPAB-11-K322A.

8. Субъект перенес серьезную операцию за ≤ 2 недели до начала приема препарата SIRPAB-11-K322A. Субъекты должны оправиться от любых клинически значимых последствий недавней хирургической операции.

9. Субъектом является беременная или кормящая женщина.

10. У субъекта имеется известная инфекция вируса иммунодефицита человека (ВИЧ).

11. У субъекта известна хроническая, активная инфекция гепатита B или C (HBV/HCV).

Субъекты с НХЛ, получающие ритуксимаб, не имеющие активной инфекции гепатита B (например, HBsAg-отрицательные, анти-HBc-положительные) и находящиеся под адекватной профилактикой против реактивации HBV, имеют право на участие в программе.

12. Предварительная трансплантация аутологичных стволовых клеток ≤ 3 месяца до начала приема SIRPAB-11-K322A.

13. Предшествующая трансплантация аллогенных стволовых клеток либо со стандартной, либо с пониженной интенсивностью улучшения физиологического состояния ≤ за 6 месяцев перед началом введения SIRPAB-11-K322A.

14. Продолжающееся лечение с применением постоянного терапевтического дозирования антикоагулянтов (например, варфарина, низкомолекулярного гепарина, ингибиторов фактора Xa)

15. Аутоиммунная гемолитическая анемия или аутоиммунная тромбоцитопения в анамнезе.

16. Случай в анамнезе одновременных вторичных форм рака, требующих активного длительного системного лечения.

17. У субъекта имеется любое значимое медицинское состояние, лабораторная аномалия или психиатрическое заболевание, которые могут препятствовать субъекту в участии в исследовании.

18. У субъекта имеется любое состояние, в том числе наличие лабораторных аномалий, которое подвергает субъекта неприемлемому риску, если он/она должны были

участвовать в исследовании.

19. Субъект страдает от любого состояния, при котором нарушается возможность интерпретировать данные исследования.

20. Для субъектов, получающих цетуксимаб, известная в анамнезе непереносимость цетуксимаба, включая инфузионные реакции 3 или 4 степени; тяжелая, стойкая угреподобная сыпь, требующая прекращения приема цетуксимаба; или интерстициальное заболевание легких.

21. Для субъектов с солидными опухолями, участвующих в оценках МРТ с ферумокситолом в когортах интенсивного ФД части A:

Аллергическая реакция на любой внутривенный препарат железа в анамнезе.

Известная повышенная чувствительность к ферумокситолу или любому из его компонентов (например, железу, декстрану или полисахаридам с молекулярной массой ≥ 1000 дальтон).

Любые противопоказания к проведению МРТ, например, наличие вживленных металлических материалов/устройств.

Известный в анамнезе гемохроматоз с перегрузкой железом.

5.12 **Пример 12: Дополнительные исследования активности антител к SIRPα в комбинации с ритуксимабом**

[00743] Во втором исследовании, аналогичном описанному в разделе 5.9.3, фагоцитотическое действие SIRPAB-11-K322A (от 0,001 нМ до 20 нМ) с ритуксимабом (0,67 нМ или 0,1 нМ) или без него оценивали с использованием 4 клеточных линий DLBCL НХЛ: OCI-LY3 (из Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ)), RIVA (из DSMZ), Karpas 422 (из DSMZ) и Pfeiffer (из Американской коллекции типовых культур (ATCC)). Две из линий, OCI-LY3 и RIVA, являются линией клеток типа активированных B-клеток; две другие линии, Pfeiffer и Karpas 422, являются линиями B-клеток зародышевого центра.

[00744] Вкратце, поверхностная экспрессия SIRPα, CD47 и CD20 измеряли методом проточной цитометрии во всех клеточных линиях с использованием SIRPAB-11-IgG4PE, ритуксимаба и антитела к CD47 hIgG1 (TPP-23), меченных Alexa Fluor 647. Меченый Alexa Fluor 647 анти-RSV IgG4PE использовали в качестве отрицательного контроля. Клетки Pfeiffer были положительными на SIRPα; клетки OCI-LY3, RIVA и Karpas 422 не показали окрашивания на SIRPα (Фиг. 16A). Все четыре линии были положительными на CD20 и CD47, при этом RIVA показала самый высокий уровень окрашивания (Фиг. 16B и16C).

[00745] Для анализа фагоцитоза опухолевые клетки, меченные карбоксифлуоресцеин диацетат-сукцинимидиловым эфиром, опсонизировали ритуксимабом или оставляли без обработки, добавляли в лунки, содержащие макрофаги, дифференцированные из человеческих донорных моноцитов (n=4), инкубировали с SIRPAB-11-K322A или контрольными антителами в течение 3 часов, метили анти-CD14-аллофикоцианином и количественно оценивали с помощью многопараметрической

визуализации. Уровень фагоцитоза измеряли и сравнивали с обработкой только SIRPAB-11-K322A или только ритуксимабом на 4 нормальных донорных макрофагах. Анти-RSV IgG1K322A использовали в качестве отрицательного контроля.

[00746] Фагоцитоз макрофагов был выше при добавлении SIRPAB-11-K322A в комбинации с ритуксимабом (предопределенная субоптимальная концентрация ритуксимаба 0,1 нМ для OCI-LY3 и RIVA или 0,67 нМ для Pfeiffer и Karpas 422) по сравнению с SIRPAB-11-K322A в качестве единственного средства для всех тестируемых клеточных линий (Фиг. 17A-17C и Фиг. 18A-18D). При тестировании против клеток OCI-LY3 или RIVA, SIRPAB-11-K322A в комбинации с 0,1 нМ ритуксимаба усиливал фагоцитоз всех 4 донорных макрофагов по сравнению с обработкой только SIRPAB-11-K322A (Фиг. 17A-17B, показаны иллюстративные данные одного донора). При тестировании в комбинации на клетках Karpas 422, SIRPAB-11-K322A с 0,67 нМ ритуксимаба усиливали фагоцитоз у 3 из 4 доноров (Фиг. 17C, показаны иллюстративные данные одного донора). При тестировании против клеток Pfeiffer, только SIRPAB-11-K322A продемонстрировал фагоцитотическую активность макрофагов по крайней мере для 3 доноров, при этом рассчитанная EC50 варьировала от 0,60 нМ до 2,90 нМ (Фиг. 18A-18D). В этой клеточной линии комбинация SIRPAB-11-K322A с 0,67 нМ ритуксимаба усиливала фагоцитоз в 3 из 4 донорных макрофагов (Фиг. 18A-18D). Комбинированная активность не была статистически значимой по сравнению с обработкой только SIRPAB-11-K322A для одного донора, где наблюдалась активность единственного средства (Фиг. 18A).

[00747] Для всех протестированных клеточных линий и доноров значения EC50 фагоцитоза макрофагами для SIRPAB-11-K322A в комбинации с ритуксимабом (0,1 нМ или 0,67 нМ) варьировали от 0,0208 нМ до 1,17 нМ и были неизменно ниже значений EC50 для одного только SIRPAB-11-K322A ($p < 0,0001$-$0,234$). Эти результаты демонстрируют комбинированный эффект SIRPAB-11-K322A и ритуксимаба в увеличении активности фагоцитоза макрофагами по сравнению с SIRPAB-11-K322A.

5.13 **Пример 13: Занятость рецепторов SIRPAB-11-K322A по результатам клинического испытания фазы 1**

[00748] SIRPAB-11-K322A связывается с SIRPα на циркулирующих моноцитах, нейтрофилах и дендритных клетках, а также на некоторых опухолевых клетках. Одной из клинических оценок биологических средств, нацеленных на клеточные антигены, является занятость рецептора (ЗР), чтобы продемонстрировать, что лекарство связывает соответствующую мишень. Анализы занятости рецепторов могут предоставить ценные данные, которые могут быть использованы для создания математических моделей уровня занятости, который, по прогнозам, приведет к биологическому эффекту. Для SIRPα был проверен анализ ЗР, позволяющий точно определить связывание SIRPAB-11-K322A с SIRPα на моноцитах, нейтрофилах и дендритных клетках в цельной крови, взятой у пациентов. В этом анализе используется неконкурентное антитело к SIRPα, которое можно использовать для идентификации молекул SIRPα, как связанных, так и

несвязанных SIRPAB-11-K322A на клетках, экспрессирующих SIRPα (Фиг. 19A). Целью является количественная оценка вовлечения и насыщения мишени для каждой группы доз SIRPAB-11-K322A.

[00749] Вкратце, цельную кровь инкубировали с флуоресцентно меченными антителами для идентификации ключевых субпопуляций лейкоцитов, а также с двумя антителами, специфичными к SIRPα, одно из которых связывается в присутствии SIRPAB-11-K322A (неконкурентного), меченного Alexa Fluor 488, и одно из которых связывается только в отсутствие SIRPAB-11-K322A (конкурентного), меченного Alexa Fluor 647. Уровни окрашивания двух антител к SIRPα рассчитываются для подгрупп лейкоцитов, и, исходя из этого, уровни занятости рецептора SIRPAB-11-K322A могут быть рассчитаны с использованием следующего уравнения:% RO SIRPα=100% * ((1 - (конкурентное AF647 факт./конкурентное AF647 предварительная доза) ÷ (неконкурентное AF488 факт./ неконкурентное AF488 предварительная доза)) (Фиг. 19A-19B). Почти полная занятость рецепторов была достигнута в моноцитах, нейтрофилах и дендритных клетках через 24 часа и 48 часов после приема доз 0,3 мг/кг и 1 мг/кг, как показано в Таблица 26 и Таблица 27.

Таблица 26. Репрезентативный процент заполнения рецепторов измеряли через 24 часа после приема дозы SIRPAB-11-K322A в когортах пациентов, получивших дозу 0,3 мг/кг и 1 мг/кг в рамках клинического исследования фазы 1.

Пациент	**Доза (мг/кг)**	**Моноциты**	**Нейтрофилы**	**Дендритные клетки**
1	0,3	98	94	96
2	0,3	99	97	100
3	1	100	98	100
4	1	100	95	90
5	1	98	85	98

Таблица 27. Репрезентативный процент заполнения рецепторов измеряли через 48 часа после приема дозы SIRPAB-11-K322A в когортах пациентов, получивших дозу 0,3 мг/кг и 1 мг/кг в рамках клинического исследования фазы 1. (Примечание: данные через 48 часов для пациента 5 недоступны)

Пациент	**Доза (мг/кг)**	**Моноциты**	**Нейтрофилы**	**Дендритные клетки**
1	0,3	87	83	79
2	0,3	93	93	94
3	1	99	95	99
4	1	100	82	87

5.14 **Пример 14: Процентное содержание Т-клеток, В-клеток, моноцитов и естественных клеток-киллеров после приема дозы SIRPAB-11-K322A по результатам**

клинического испытания фазы 1

[00750] Лейкоциты человека можно разделить на четыре основные популяции, основанные на их биологической функции и экспрессии антигенов на клеточной поверхности: Т-лимфоциты (CD3+), В-лимфоциты (CD19+), моноциты (CD14) и NK-лимфоциты (CD16+CD56+). Реагент BD Multitest TBNK (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния, США), который был проверен для количественного определения моноцитов, использовали для определения процентного содержания этих подмножеств клеток после приема дозы SIRPAB-11-K322A. SIRPAB-11-K322A дозировали 1 р/нед (еженедельно).

[00751] Репрезентативные проценты подмножеств лейкоцитов у пациентов, получавших SIRPAB-11-K322A, до приема дозы в день 1 и после приема дозы 0,3 мг/кг в день 29, представлены в таблице 28 ниже.

Таблица 28. Репрезентативные проценты подмножеств лейкоцитов у пациентов, получавших SIRPAB-11-K322A в дозе 0,3 мг/мл (процент содержания CD45+ клеток (лимфоциты)).

	CD3+ Т-клетки	CD19+ В-клетки	CD3-(CD16+CD56)+ Естественные клетки-киллеры	CD14+ моноциты
День 1 до приема дозы	65,9	21,4	10,1	7,6
День 29 после приема дозы	64,9	19,4	13,9	9,3

[00752] Репрезентативные проценты подмножеств лейкоцитов у пациентов, получавших SIRPAB-11-K322A, до приема дозы в день 1 и после приема дозы 1 мг/кг в день 29, представлены в таблице 29.

Таблица 29: Репрезентативные проценты подмножеств лейкоцитов у пациентов, получавших SIRPAB-11-K322A в дозе 1 мг/мл (процент содержания CD45+ клеток (лимфоциты)).

	CD3+ Т-клетки	CD19+ В-клетки	CD3-(CD16+CD56)+ Естественные клетки-киллеры	CD14+ моноциты
День 1 до приема дозы	66,7	9,3	20,6	8,0
День 29 после приема дозы	59,0	14,2	26,0	6,5

[00753] После приема SIRPAB-11-K322A 1 р/нед в течение одного месяца у пациентов, получавших лечение в дозе 0,3 мг/кг или 1 мг/кг, значительных изменений в процентном соотношении подмножеств клеток не наблюдалось. Наблюдаемые изменения

были в пределах погрешности анализа и в пределах нормального диапазона для здоровых людей. Эти клинические данные демонстрируют превосходный профиль безопасности SIRPAB-11-K322A.

5.15 **Пример 15: Сравнение антител к SIRPα , представленных в данном документе, и эталонных антител к SIRPα в их связывании для SIRPα, SIRPβ и SIRPγ**

[00754] Связывание антител к SIRPα и контрольных антител с антигенами человека SIRPα, SIRPβ и SIRPγ определяли и сравнивали методом поверхностного плазмонного резонанса с помощью прибора Biacore T200. Антитела, сравниваемые в данном исследовании, включают SIRPAB-11-K322A, SIRPAB-12-K322A, эталонное антитело к SIRPα, имеющее аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:224 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:225 (как ЭТАЛОННОЕ АНТИТЕЛО в данном примере), и антитело изотипического контроля-K322A. Вкратце, антитела SIRPAB-11-K322A, SIRPAB-11-K322A, ЭТАЛОННОЕ АНТИТЕЛО и антитело изотипического контроля-K322A были захвачены на канал 2 чипа на основе белка A серии S от GE Healthcare (кат. №: 29127556) при концентрации 0,5 мкг/мл. Затем антигены SIRα, SIRPβ и SIRγ человека вводили микроструйным способом со скоростью 30 мкл в минуту в каналы 1 и 2. Резонансный сигнал в течение 300 секунд для времени ассоциации антигена и 300 секунд для времени диссоциации антигена при каждой концентрации антигена регистрировали, анализировали и согласовывали с моделью Ленгмюра 1:1 с использованием программного обеспечения Biacore BIAevaluation. Аффинность связывания, определенная на основе апроксимированных кривых, приведена в таблице 30 ниже. Как показано в Таблице 30, SIRPAB-11-K322A и SIRPAB-12-K322A имеют превосходную аффинность связывания по сравнению с ЭТАЛОННЫМ АНТИТЕЛОМ при связывании с антигенами SIRPα, SIRPβ и SIRPγ человека.

Таблица 30: Аффинность связывания (константа равновесной диссоциации, $K_Д$, в М), определенная по результатам сравнительных исследований.

	ВКД-hSIRPα (v1)	**ВКД-hSIRPβ**	**ВКД-hSIRPγ**
SIRPAB-11 -K322A	**$9{,}23 \times 10^{-11}$**	**$3{,}80 \times 10^{-10}$**	**$6{,}32 \times 10^{-11}$**
SIRPAB-12 -K322A	**$4{,}24 \times 10^{-10}$**	**$2{,}08 \times 10^{-09}$**	**$3{,}51 \times 10^{-10}$**
ЭТАЛОННОЕ АНТИТЕЛО	**$3{,}65 \times 10^{-09}$**	**$2{,}98 \times 10^{-09}$**	**$1{,}47 \times 10^{-09}$**

ВКД=внеклеточный домен

ЭТАЛОННОЕ АНТИТЕЛО=эталонное антитело к SIRPα, имеющее аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:224 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:225

6. **ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

[00755] Данное описание подается вместе с копией Перечня последовательностей в машиночитаемом формате (МЧФ). МЧФ под названием 10624-442-228 _SEQ_LISTING.txt, который был создан 20 сентября 2019 г. и имеет размер 298057 байтов, идентичен бумажной копии Перечня последовательностей и в полном объеме включен в данный

документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые

(a) связываются с эпитопом SIRPα человека, распознаваемым антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80; или

(b) конкурируют за связывание с SIRPα человека с антителом, содержащим вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80.

2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с SIRPα, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую определяющую комплементарность область 1 (CDR1) VL, CDR2 VL и CDR3 VL любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13, как указано в таблице 1; и/или

вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющую комплементарность область 1 (CDR1) VH, CDR2 VH и CDR3 VH любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13, как указано в таблице 2.

3. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

вариабельную область легкой цепи (VL), дополнительно содержащую каркасную область 1 (FR1) VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13, как указано в таблице 3; и/или

вариабельную область тяжелой цепи (VH), дополнительно содержащую каркасную область 1 (FR1) VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH любого из антител SIRPAB-11, SIRPAB-12, SIRPAB-1, SIRPAB-2, SIRPAB-3, SIRPAB-4, SIRPAB-5, SIRPAB-6, SIRPAB-7, SIRPAB-8, SIRPAB-9, SIRPAB-10 или SIRPAB-13, как указано в таблице 4.

4. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, в котором CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 62, 63 и 65, соответственно, и CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 78, 69 и 57, соответственно.

5. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, в котором CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 62, 63 и 65, соответственно, и CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 82, 83 и 57, соответственно.

6. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или

его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

7. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46.

8. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

9. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9.

10. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

11. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32.

13. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36.

14. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42.

15. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

16. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

17. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71.

18. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76.

19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80.

20. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85.

21. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и 6-8, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90.

22. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9.

23. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22.

24. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27.

25. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:32.

26. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36.

27. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42.

28. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:50.

29. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:60.

30. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или

его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71.

31. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76.

32. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80.

33. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:85.

34. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90.

35. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 2, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VL, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 18, 46 и 67; и

VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 22, 27, 32, 36, 42, 50, 60, 71, 76, 80, 85 и 90.

36. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG1 человека или ее мутантную форму.

37. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-36, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область с K322A IgG1 человека.

38. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область с AAS IgG1 человека.

39. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG4 человека или ее мутантную форму.

40. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35 и 39, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG4P человека.

41. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35 и 39, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область IgG4PE человека.

42. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 144 и 155-159.

43. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по пп. 1-42, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержит константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 211.

44. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:211; и

Fc-область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 144 и 155-159.

45. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-4, 8, 29-34 и 35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143.

46. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-4, 19, 32 и 35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

47. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-4, 8, 19, 32 и 35, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

48. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200.

49. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202.

50. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143.

51. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 208.

52. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 209.

53. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 210.

54. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

55. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119.

56. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 204.

57. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 205.

58. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98.

59. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120.

60. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

61. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106.

62. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118.

63. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111.

64. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 212.

65. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 213.

66. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 214.

67. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 215.

68. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216.

69. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 217.

70. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 218.

71. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 219.

72. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 220.

73. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 221.

74. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 222.

75. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 223.

76. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207.

77. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117.

78. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110.

79. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46,

причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148.

80. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.

81. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:213.

82. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:214.

83. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:215.

84. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:216.

85. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:202; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:217.

86. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:202; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:218.

87. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

88. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:220.

89. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:221.

90. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

91. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:204.

92. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:222.

93. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:223.

94. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:200; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:207.

95. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:208; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:117.

96. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:209; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:110.

97. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:119.

98. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98.

99. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:120.

100. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:112.

101. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:205.

102. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:106.

103. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:118.

104. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:111.

105. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-46, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 143, 200, 202, 208, 209 и 210; и

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 142, 204, 222, 223, 207, 117, 110, 148, 119, 98, 120, 112, 205, 106, 118 и 111.

106. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-105, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

107. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 106, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается по меньшей мере с одним из остатков 67-74 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

108. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 106, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается по меньшей мере с одним из остатков 93-98 в пределах аминокислотной последовательности

SEQ ID NO: 146.

109. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-105, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается по меньшей мере с одним из остатков 30-93 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

110. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-109, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается по меньшей мере с одним остатком, выбранным из группы, состоящей из L30, I36, Q52, T67, R69, F74, K93, R95, K96 и S98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

111. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с L30 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

112. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с I36 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

113. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с Q52 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

114. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с T67 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

115. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с R69 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

116. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с F74 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

117. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с K93 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

118. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с R95 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

119. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с K96 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

120. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с S98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

121. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 110, причем, при связывании с SIRPα, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с T67, R69, R95, K96 и S98 в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146.

122. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-121, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшает связывание между SIRPα и CD47.

123. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 122, причем SIRPα содержит гаплотип в домене IgV, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154.

124. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 122 или 123, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент уменьшает связывание CD47 с каждым из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

125. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 122-124, причем уменьшение связывания CD47-SIRPα составляет 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99%.

126. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 122-125, причем EC_{50} антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для уменьшения связывания CD47-SIRPα составляет от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ или от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ.

127. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 122-126, причем EC_{50} антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для уменьшения связывания CD47-SIRPα составляет примерно 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ, примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ или примерно 6,0 нМ.

128. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-121, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с одним или более из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα

v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

129. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 128, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с каждым из 6 гаплотипов SIRPα.

130. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 129, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с каждым из 6 гаплотипов SIRPα с константой диссоциации (K_D) не более 5 нМ.

131. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-130, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v1 с K_D не более 0,2 нМ.

132. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-131, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v1 с K_D примерно 0,13 нМ.

133. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-132, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v2 с K_D не более 5 нМ.

134. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-133, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v2 с K_D примерно 4,4 нМ.

135. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-134, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v3 с K_D не более 0,2 нМ.

136. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-135, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v3 с K_D примерно 0,15 нМ.

137. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-136, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v4 с K_D не более 2 нМ.

138. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-137, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v4 с K_D примерно 1,5 нМ.

139. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-138, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v5 с K_D не более 0,7 нМ.

140. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-139, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v5 с K_D примерно 0,6 нМ.

141. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-140, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v6 с K_D не более 0,2 нМ.

142. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 128-141, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с очищенным SIRPα v6 с K_D примерно 0,18 нМ.

143. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-142, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SIRPα человека, экспрессируемым на клетке, с EC_{50} от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ или от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ.

144. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 143, причем EC_{50} составляет примерно 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ, примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ или примерно 6,0 нМ.

145. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-144, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с SIRPα человека и/или SIRPα обезьяны, но не с SIRPα грызуна.

146. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-145, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SIRPα яванского макака, экспрессируемым на клетке, с EC_{50} от примерно 1 пМ до примерно 10 пМ, от примерно 10 пМ до примерно 100 пМ, от примерно 100 пМ до примерно 1 нМ, от примерно 1 нМ до примерно 10 нМ или от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ.

147. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 146, причем EC_{50} составляет примерно 2 нМ, примерно 2,1 нМ, примерно 2,2 нМ, примерно 2,3 нМ, примерно 2,4 нМ, примерно 2,5 нМ, примерно 2,6 нМ, примерно 2,7 нМ, примерно 2,8 нМ, примерно 2,9 нМ, примерно 3 нМ, примерно 3,1 нМ, примерно 3,2 нМ, примерно 3,3 нМ, примерно 3,4 нМ, примерно 3,5 нМ, примерно 3,6 нМ, примерно 3,7 нМ, примерно 3,8 нМ, примерно 3,9 нМ, примерно 4,0 нМ, примерно 4,1 нМ, примерно 4,2 нМ, примерно 4,3 нМ, примерно 4,4 нМ, примерно 4,5 нМ, примерно 4,6 нМ, примерно 4,7 нМ, примерно 4,8 нМ, примерно 4,9 нМ, примерно 5,0 нМ, примерно 5,1 нМ, примерно 5,2 нМ, примерно 5,3 нМ, примерно 5,4 нМ, примерно 5,5 нМ, примерно 5,6 нМ, примерно 5,7 нМ, примерно 5,8 нМ, примерно 5,9 нМ или примерно 6,0 нМ.

148. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-147,

причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами.

149. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 148, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент используется как одно лекарственное средство.

150. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 148, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент используется в комбинации с вторым лекарственным средством.

151. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 150, причем второе лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из цетуксимаба и ритуксимаба.

152. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 148-151, причем SIRPα экспрессируется на макрофагах, раковых клетках или как на макрофагах, так и на раковых клетках.

153. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 152, причем SIRPα представляет собой один или более из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

154. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 148-153, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент увеличивает минимальный процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов на примерно 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%.

155. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 148-154, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент усиливает фагоцитоз макрофагом примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900% или 1000%.

156. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 148-155, причем раковые клетки выбраны из группы, состоящей из колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза или диффузной В-крупноклеточной лимфомы.

157. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-147, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент действует синергетически со вторым лекарственным средством, усиливая фагоцитоз раковых клеток совместно культивированными макрофагами.

158. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 157, причем второе лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из цетуксимаба и ритуксимаба.

159. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 157-158,

причем SIRPα экспрессируется на макрофагах, раковых клетках или как на макрофагах, так и на раковых клетках.

160. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 159, причем SIRPα представляет собой один или более из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

161. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 157-160, причем разница между процентным содержанием синергетически индуцированных фагоцитотических макрофагов и суммой процентного содержания фагоцитотических макрофагов, индуцированных антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и вторым лекарственным средством отдельно, составляет примерно 10%, 15%, 20%, 25% , 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% или 70%.

162. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 157-160, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе лекарственное средство синергетически увеличивают процентное содержание фагоцитотических макрофагов относительно суммы процентного содержания фагоцитотических макрофагов, индуцированных антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и вторым лекарственным средством отдельно, примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300% или 400%.

163. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 157-162, причем раковые клетки выбраны из группы, состоящей из колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза или диффузной В-крупноклеточной лимфомы.

164. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-163, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет ослабленную активность АЗКЦ, ослабленную активность АЗКФ и/или ослабленную активность КЗЦ по сравнению с антителом изотипического контроля.

165. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 164, причем максимальная активность АЗКЦ составляет не более чем примерно 5%, 10%, 20%, 30% или 40% цитотоксичности, измеренной по процентному количеству убитых клеток-мишеней.

166. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 164, причем максимальная активность АЗКФ составляет не более чем примерно 5%, 10%, 20% или 30% фагоцитотических макрофагов, нацеленных на аутологичные Т-клетки и/или моноциты.

167. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 164, причем EC50

антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в анализе КЗЦ составляет по меньшей мере 100 мкМ.

168. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-167, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не индуцирует высвобождение цитокинов, превышающее уровень высвобождения цитокинов, индуцированный антителом изотипического контроля.

169. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-168, причем антитело представляет собой моноклональное антитело.

170. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-169, причем антитело представляет собой гуманизированное, человеческое или химерное антитело.

171. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 170, причем гуманизированное антитело представляет собой деиммунизированное антитело или композитное человеческое антитело.

172. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-171, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, dsFv, диатело, триатело, тетратело или мультиспецифическое антитело, образованное из фрагментов антител.

173. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-172, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с агентом.

174. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 173, причем агент выбран из группы, состоящей из радиоактивного изотопа, металлохелатора, фермента, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения и хемилюминесцентного соединения.

175. Композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-174 и фармацевтически приемлемый носитель.

176. Полинуклеотид, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие VH, VL или как VH, так и VL антитела по любому из пп. 1-175.

177. Полинуклеотид, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую цепь, легкую цепь или как тяжелую цепь, так и легкую цепь антитела по любому из пп. 1-176.

178. Полинуклеотид по п. 176 или п. 177, причем полинуклеотид функционально связан с промотором.

179. Вектор, содержащий полинуклеотид по п. 176 или п. 177.

180. Клетка, содержащая полинуклеотид по п. 176 или п. 177.

181. Клетка, содержащая вектор по п. 179.

182. Выделенная клетка, продуцирующая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-174.

183. Набор, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-174.

184. Способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с эпитопом SIRPα человека, включающий культивирование клетки по любому из пп. 180-182 для экспрессии антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

185. Способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с эпитопом SIRPα человека, включающий экспрессию полинуклеотида по любому из пп. 176-178.

186. Способ увеличения фагоцитоза макрофагом, включающий контактирование макрофага с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-174.

187. Способ по п. 186, в котором фагоцитотическая активность макрофага увеличивается примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 250%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900% или 1000%.

188. Способ увеличения процентного содержания фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов, включающий контактирование макрофагов с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-174.

189. Способ по п. 188, в котором минимальное процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается на примерно 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%.

190. Способ увеличения фагоцитоза раковых клеток популяцией макрофагов, включающий контактирование раковых клеток, макрофагов или как раковых клеток, так и макрофагов с эффективным количеством антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-174.

191. Способ по п. 190, в котором минимальное процентное содержание фагоцитотических макрофагов в популяции макрофагов увеличивается на примерно 10%, 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%.

192. Способ по любому из пп. 186-191, в котором фагоцитоз макрофагами измеряется с помощью совместно культивированных макрофагов, помеченных первым флуоресцентным красителем, и раковых клеток, помеченных вторым флуоресцентным красителем, при этом первый флуоресцентный краситель и второй флуоресцентный краситель разные.

193. Способ по любому из пп. 188-189 и 191-192, в котором процентное содержание фагоцитотических макрофагов измеряется путем определения процентного содержания макрофагов, содержащих раковые клетки.

194. Способ увеличения фагоцитоза раковых клеток у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-174.

195. Способ повышения элиминирования раковых клеток путем фагоцитоза у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества антитела или его

антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-174.

196. Способ нацеливания на раковые клетки для иммунодеплеции у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-174.

197. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-174.

198. Способ по любому из пп. 194-197, в котором рак представляет собой рак, выбранный из группы, состоящей из колоректального рака, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, острого миелоидного лейкоза, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы маргинальной зоны и лимфомы из клеток мантии.

199. Способ по любому из пп. 194-197, в котором рак представляет собой неходжкинскую лимфому.

200. Способ по любому из пп. 194-197, в котором рак выбран из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы степени 1, фолликулярной лимфомы степени 2, фолликулярной лимфомы степени 3a, фолликулярной лимфомы степени 3b, рецидивирующей фолликулярной лимфомы, рефрактерной фолликулярной лимфомы, рецидивирующей DLBCL или рефрактерной DLBCL.

201. Способ по любому из пп. 186-200, в котором раковые клетки, макрофаги или как раковые клетки, так и макрофаги экспрессируют SIRPα.

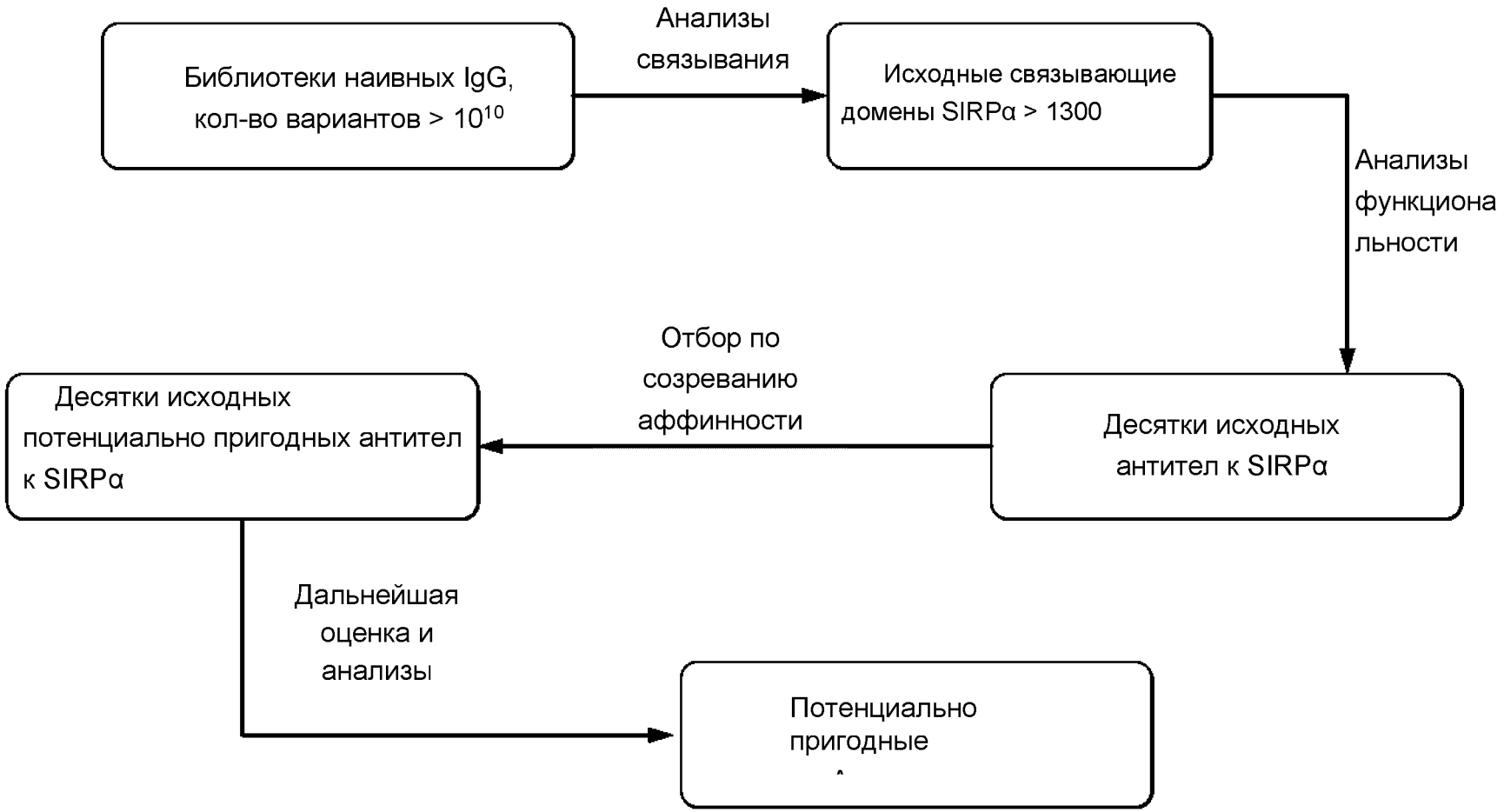
202. Способ по п. 201, в котором SIRPα представляет собой один или более из 6 гаплотипов SIRPα, при этом 6 гаплотипов SIRPα состоят из SIRPα v1, SIRPα v2, SIRPα v3, SIRPα v4, SIRPα v5 и SIRPα v6, и при этом SIRPα v1 содержит SEQ ID NO: 149 в домене IgV, SIRPα v2 содержит SEQ ID NO: 150 в домене IgV, SIRPα v3 содержит SEQ ID NO: 151 в домене IgV, SIRPα v4 содержит SEQ ID NO: 152 в домене IgV, SIRPα v5 содержит SEQ ID NO: 153 в домене IgV, и SIRPα v6 содержит SEQ ID NO: 154 в домене IgV.

203. Способ по любому из пп. 186-202, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент совместно вводят со вторым лекарственным средством.

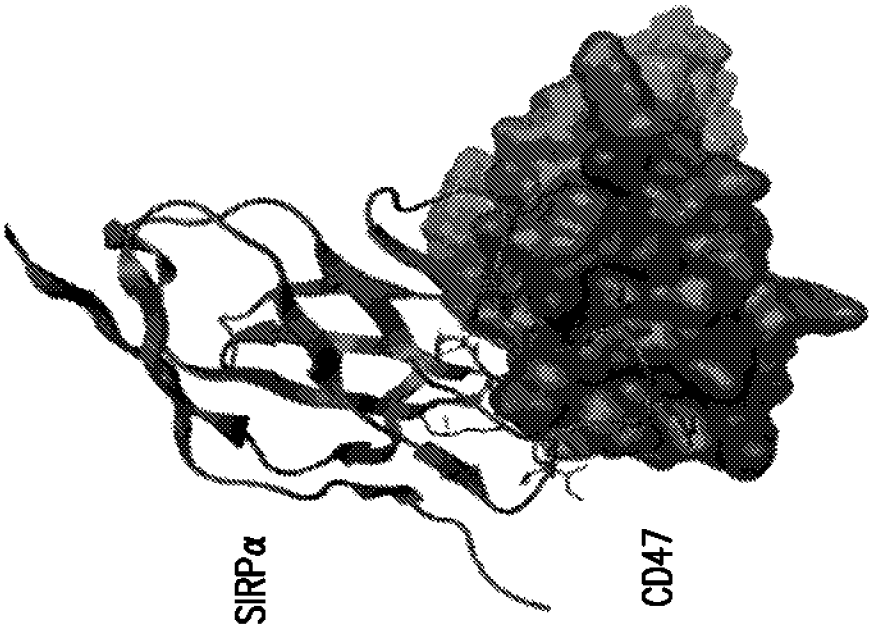
204. Способ по п. 203, в котором второе лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из цетуксимаба и ритуксимаба.

205. Способ по любому из пп. 194-204, в котором субъект выбран из группы, состоящей из человека, обезьяны, мыши, собаки и крысы.

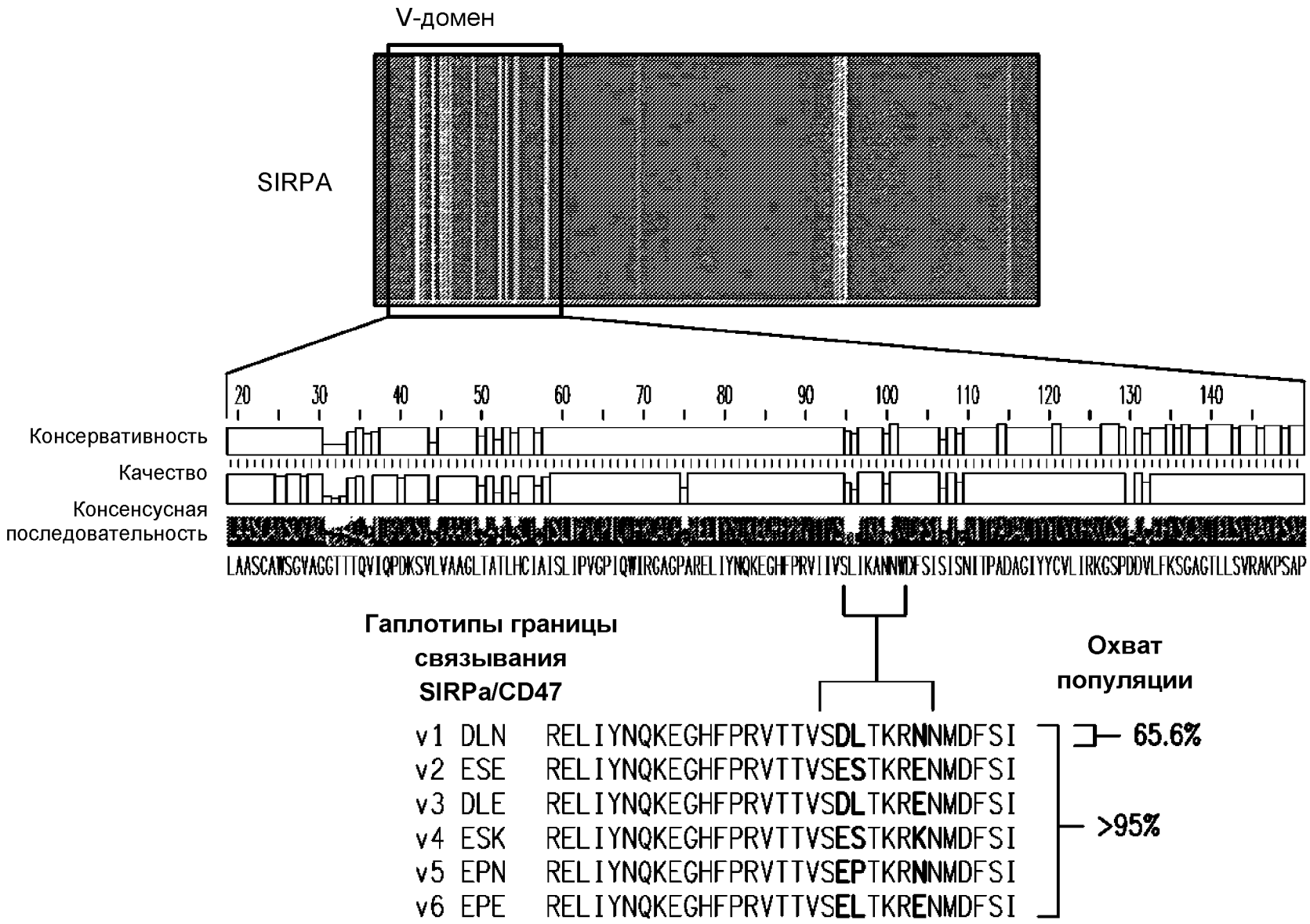
По доверенности


Библиотеки наивных IgG, кол-во вариантов > 10^{10}
Анализы связывания
Исходные связывающие домены SIRPα > 1300
Анализы функциональности
Десятки исходных антител к SIRPα
Отбор по созреванию аффинности
Десятки исходных потенциально пригодных антител к SIRPα
Дальнейшая оценка и анализы
Потенциально пригодные

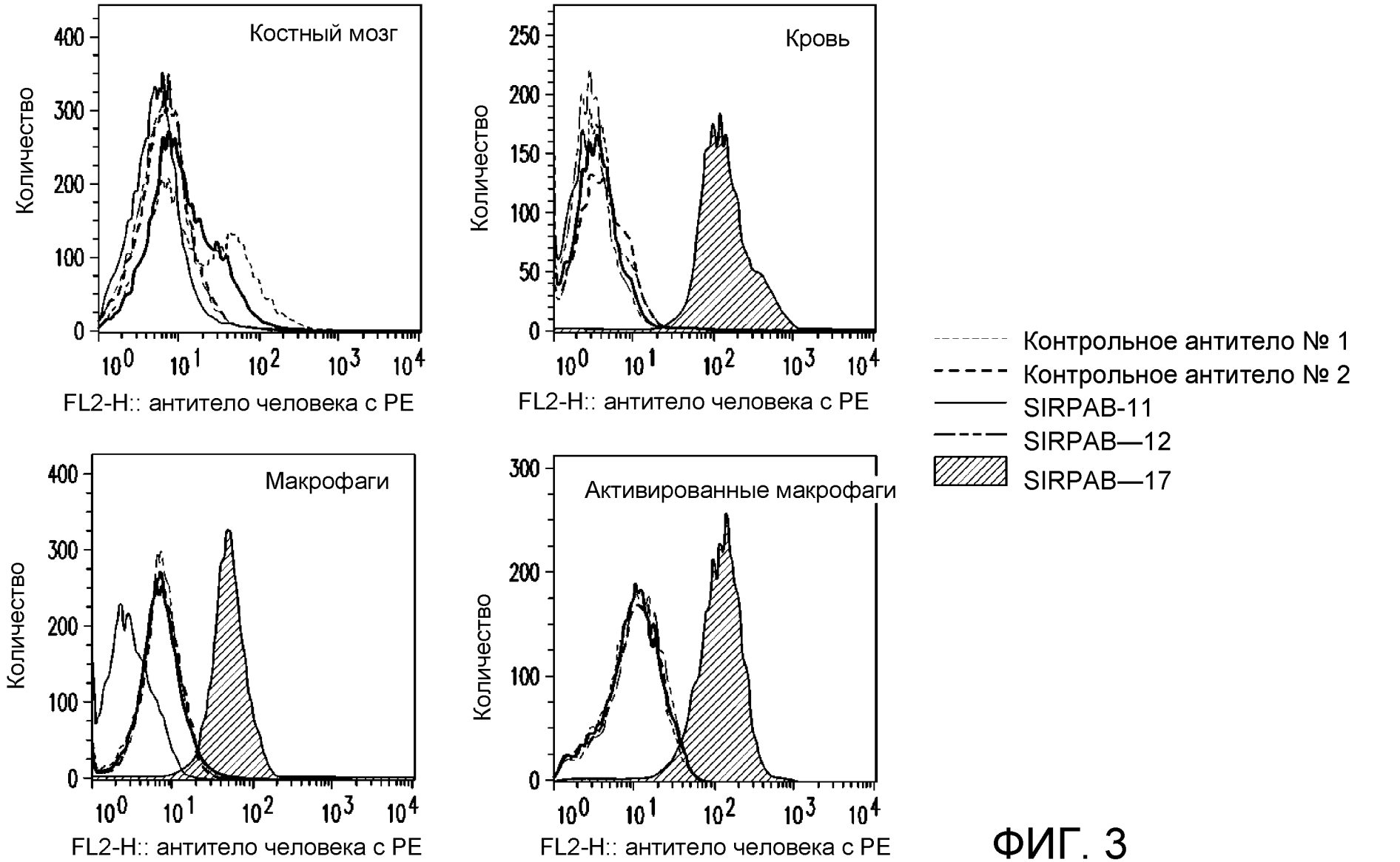
ФИГ. 1



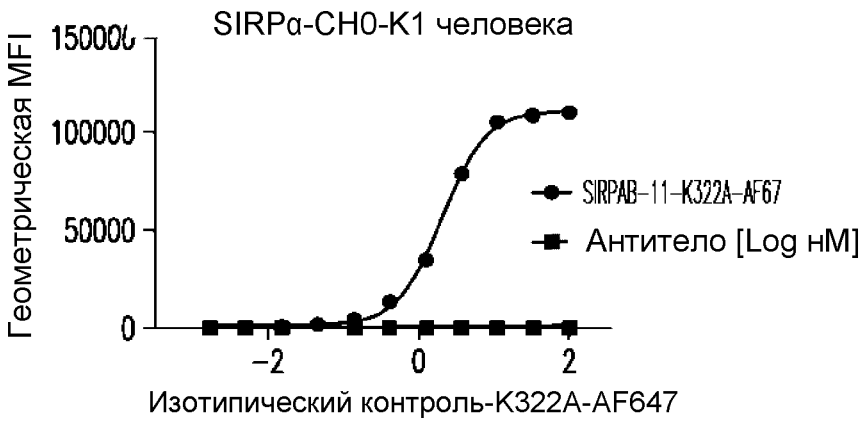
ФИГ. 2



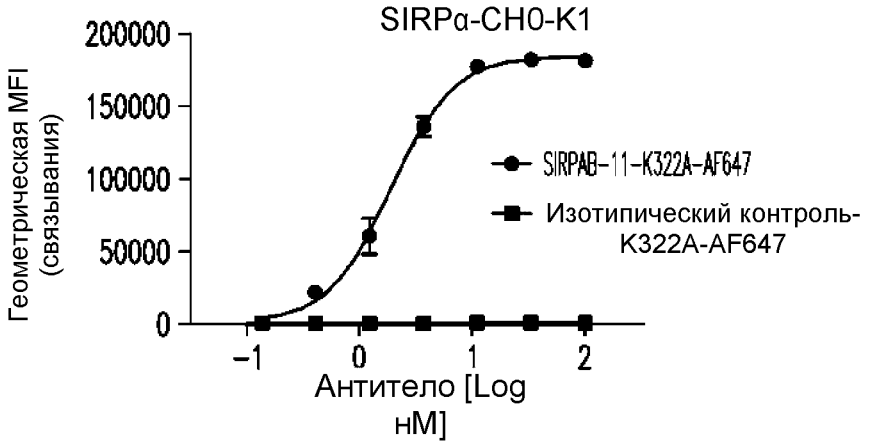
ФИГ. 2 (продолжение)


Костный мозг
Количество
FL2-H:: антитело человека с PE
Кровь
Количество
FL2-H:: антитело человека с PE
Макрофаги
Количество
FL2-H:: антитело человека с PE
Активированные макрофаги
Количество
FL2-H:: антитело человека с PE
Контрольное антитело № 1
Контрольное антитело № 2
SIRPAB-11
SIRPAB—12
SIRPAB—17

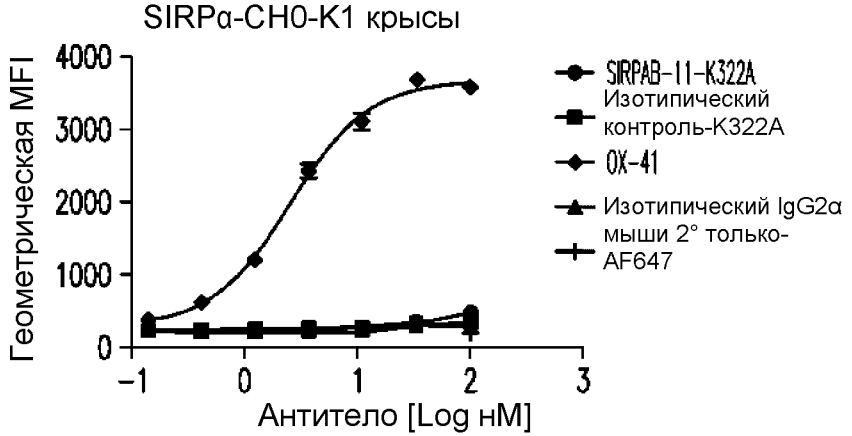
ФИГ. 3



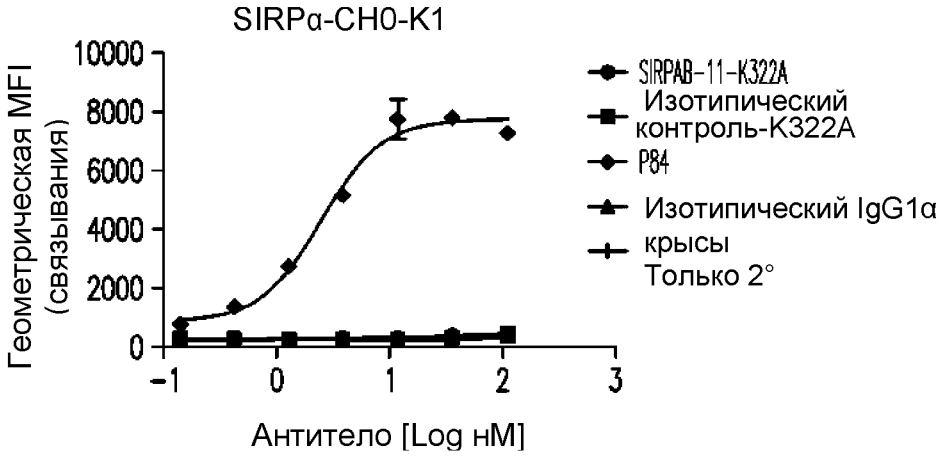
ФИГ. 4A



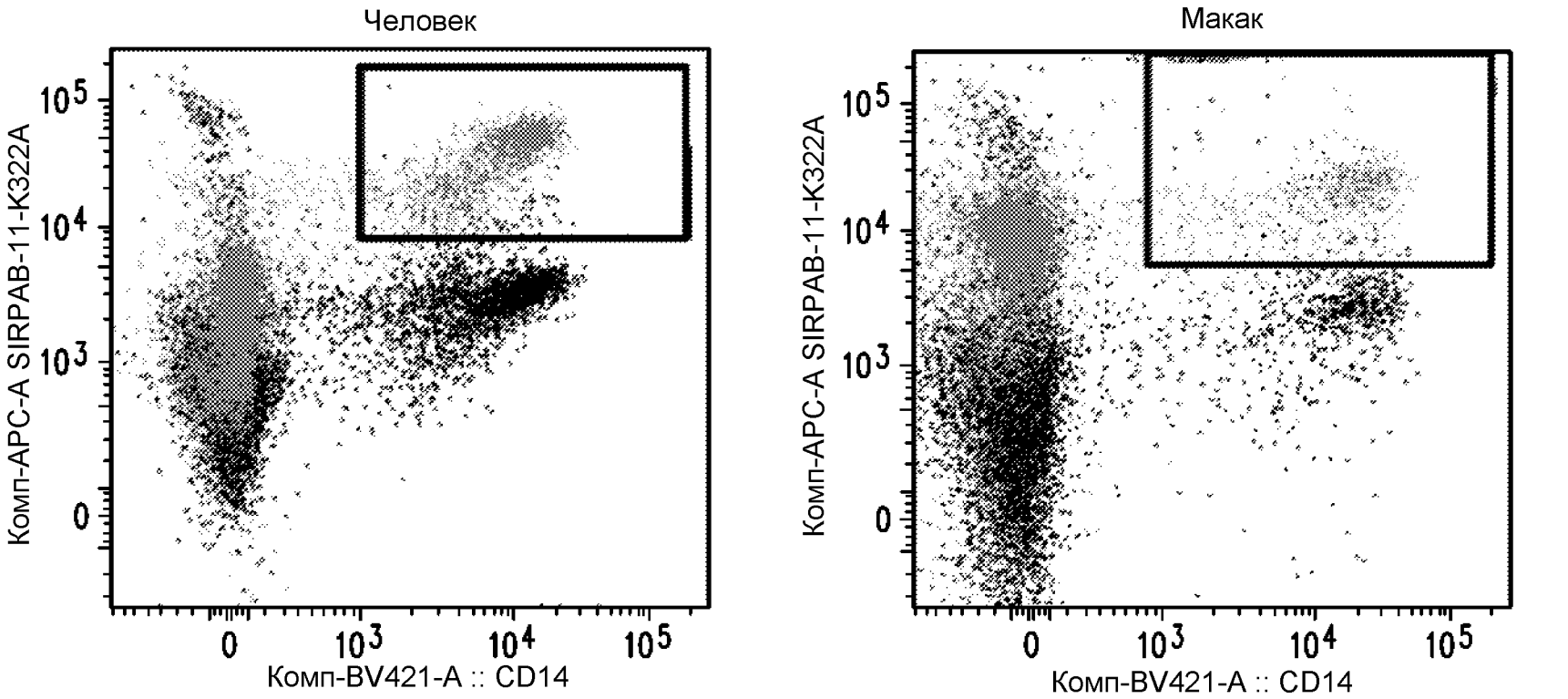
ФИГ. 4B



ФИГ. 4C



ФИГ. 4D



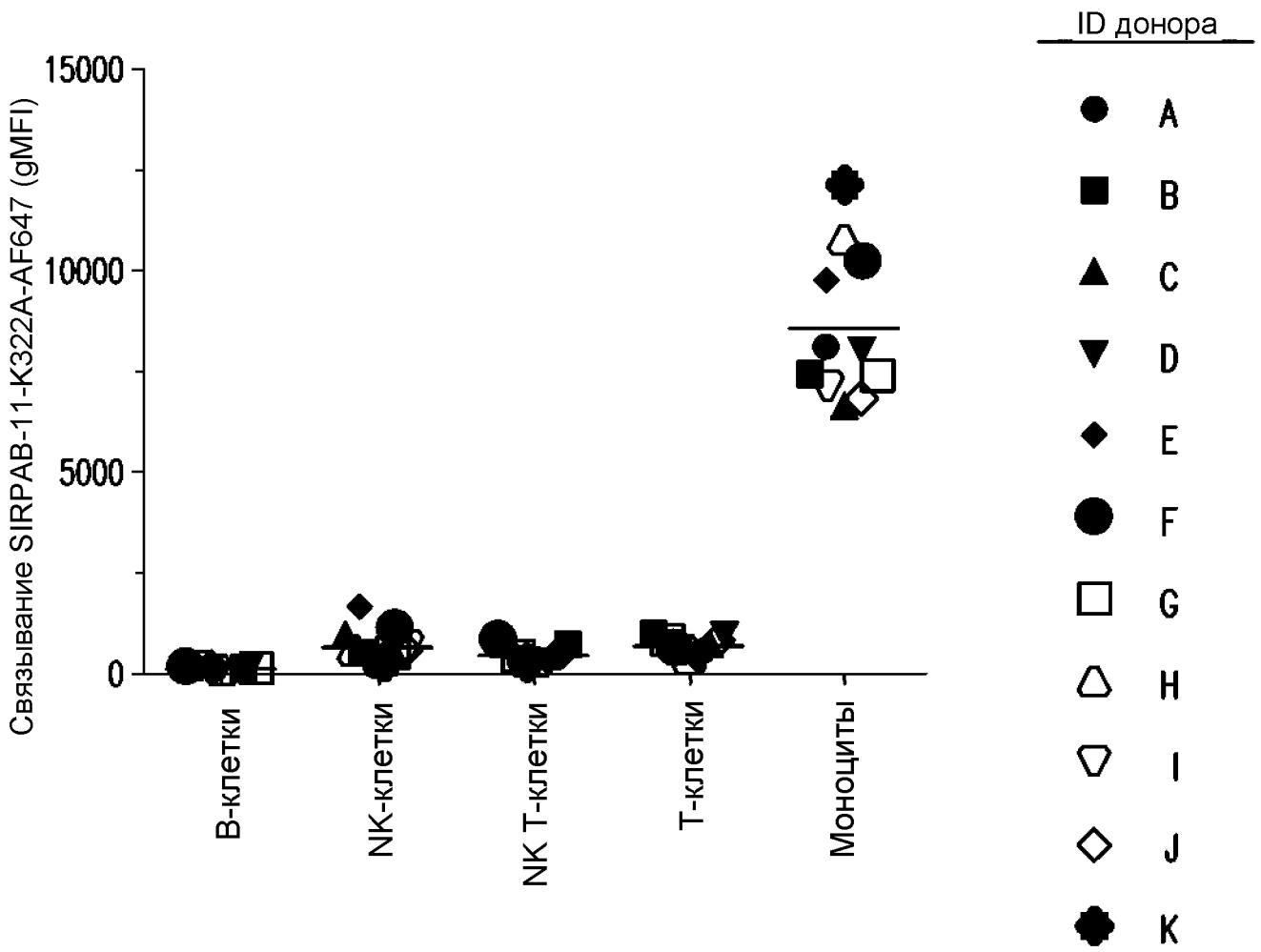
	Название образца	Название подмножества	Количество
	human_B5_B05_005.fcs	Отдельные клетки	21068
	human_B2_B02_002.fcs	Отдельные клетки	15619

	Название образца	Название подмножества	Количество
	Cyno_C6_C06_014.fcs	Отдельные клетки	65630
	Cyno_C3_C03_011.fcs	Отдельные клетки	62773

Изотипический контроль-K322A

SIRPAB-11-K322A

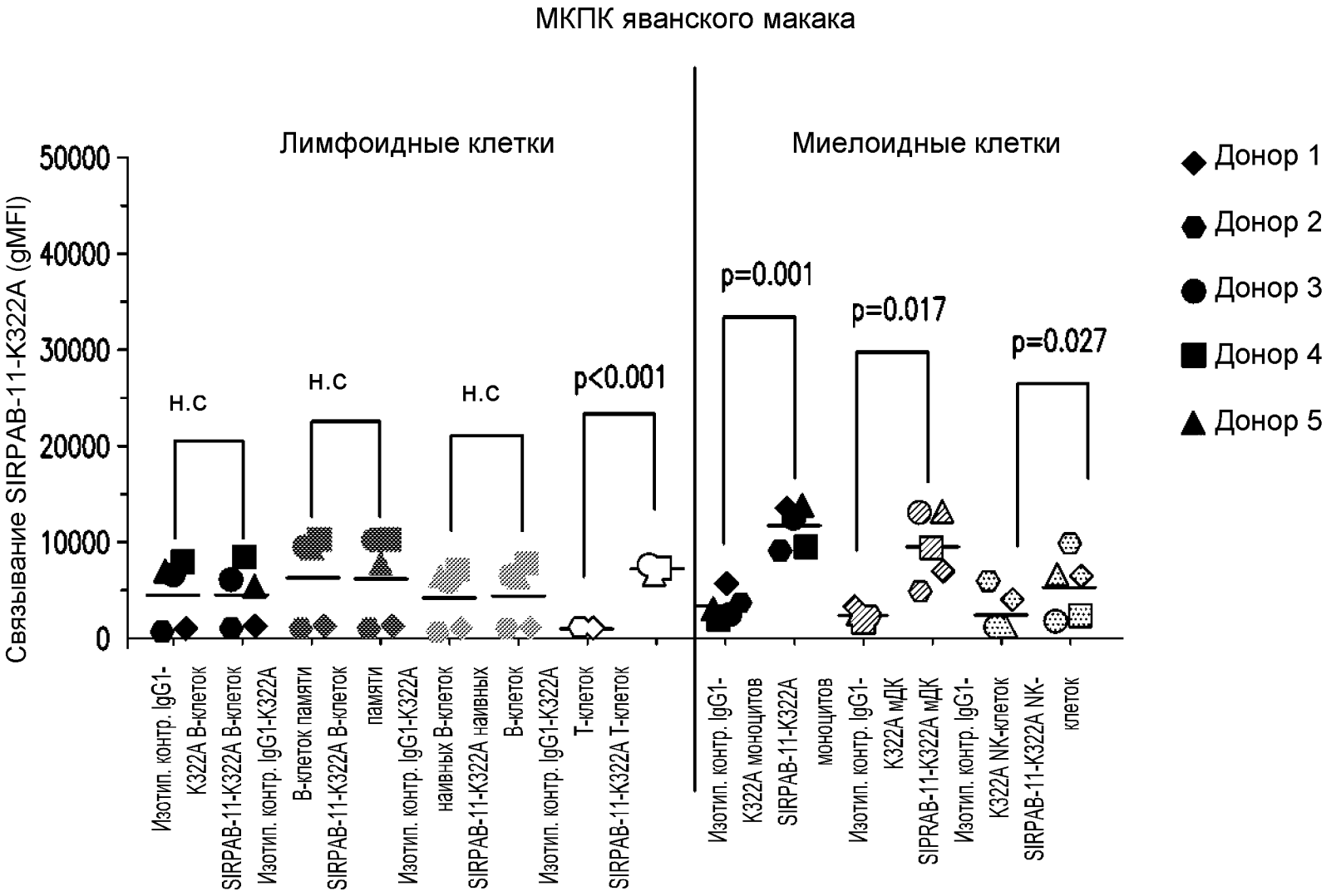
ФИГ. 5A


Связывание SIRPAB-11-K322A-AF647 (gMFI)
15000
10000
5000
0
B-клетки
NK-клетки
NK T-клетки
T-клетки
Моноциты
ID донора
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K

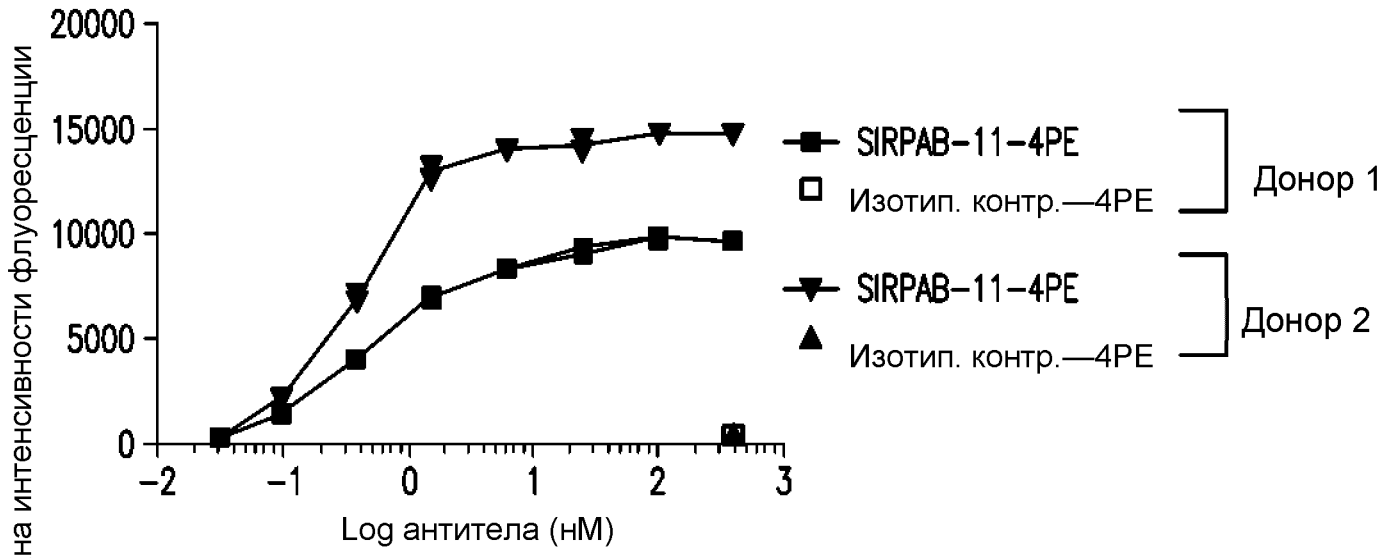
ФИГ. 5B

МКПК человека
Лимфоидные клетки
Миелоидные клетки
Связывание SIRPAB-11-K322A (gMFI)
50000
40000
30000
20000
10000
0
n.s.
n.s.
n.s.
p=0.002
p=0.006
p=0.016
n.s.
Донор 1
Донор 2
Донор 3
Донор 4
Донор 5
Изотип. контр. IgG1-K322A B-клеток
SIRPAB-11-K322A B-клеток
Изотип. контр. IgG1-K322A B-клеток памяти
SIRPAB-11-K322A B-клеток памяти
IgG1-K322A наивных B-клеток
Изотип. контр. SIRPAB-11-K322A наивных B-клеток
Изотип. контр. IgG1-K322A T-клеток
SIRPAB-11-K322A T-клеток
Изотип. контр. IgG1-K322A моноцитов
SIRPAB-11-K322A моноцитов
IgG1- K322A мДК
Изотип. контр. SIRPAB-11-K322A
IgG1-K322A NK-клеток
Изотип. контр. SIRPAB-11-K322A NK-клеток

ФИГ. 5С

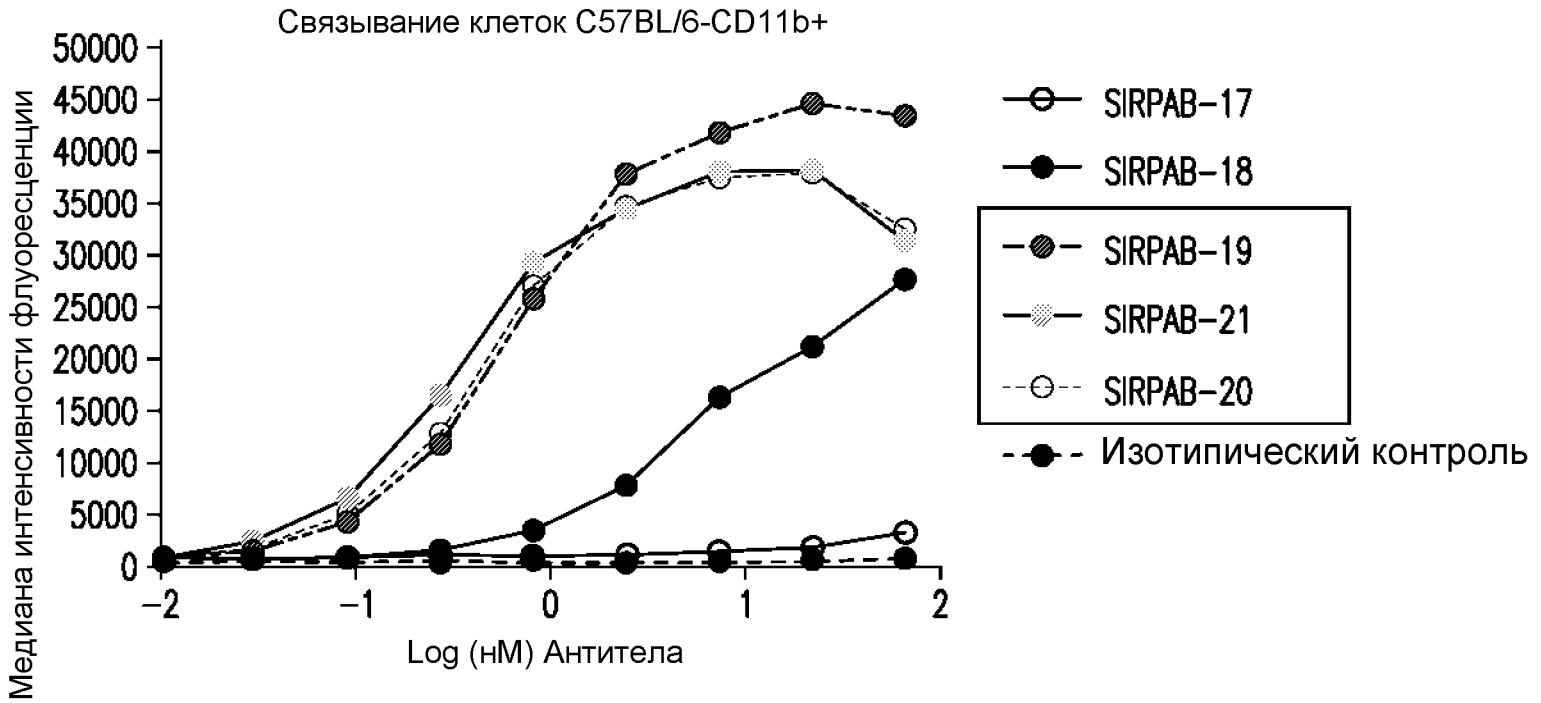

МКПК яванского макака
Лимфоидные клетки
Миелоидные клетки
Связывание SIRPAB-11-K322A (gMFI)
50000
40000
30000
20000
10000
0
н.с
н.с
н.с
p<0.001
p=0.001
p=0.017
p=0.027
Донор 1
Донор 2
Донор 3
Донор 4
Донор 5
Изотип. контр. IgG1-K322A B-клеток
SIRPAB-11-K322A B-клеток
Изотип. контр. IgG1-K322A
B-клеток памяти
SIRPAB-11-K322A B-клеток памяти
Изотип. контр. IgG1-K322A
наивных B-клеток
SIRPAB-11-K322A наивных B-клеток
Изотип. контр. IgG1-K322A
T-клеток
SIRPAB-11-K322A T-клеток
Изотип. контр. IgG1-K322A моноцитов
SIRPAB-11-K322A моноцитов
Изотип. контр. IgG1-K322A мДК
SIRPAB-11-K322A мДК
Изотип. контр. IgG1-K322A NK-клеток
SIRPAB-11-K322A NK-клеток

ФИГ. 5D

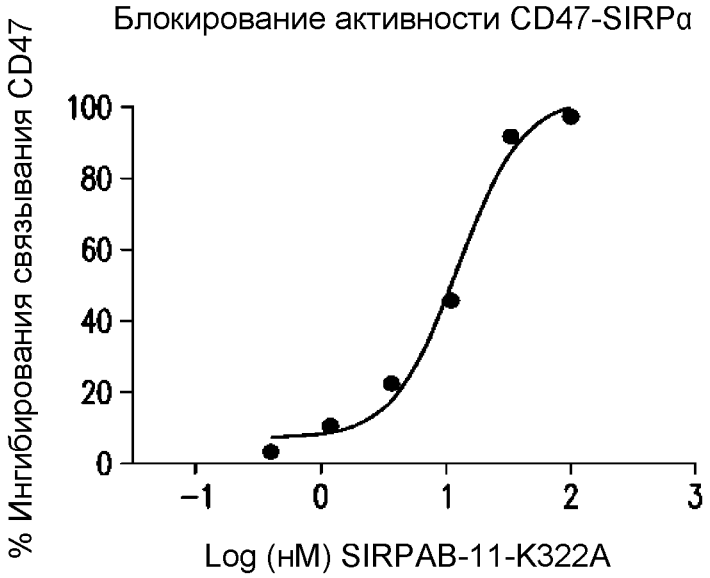


EC_{50} нМ	Донор 1	Донор 2
SIRPAB−11−4PE	0.426	0.390

ФИГ. 5E

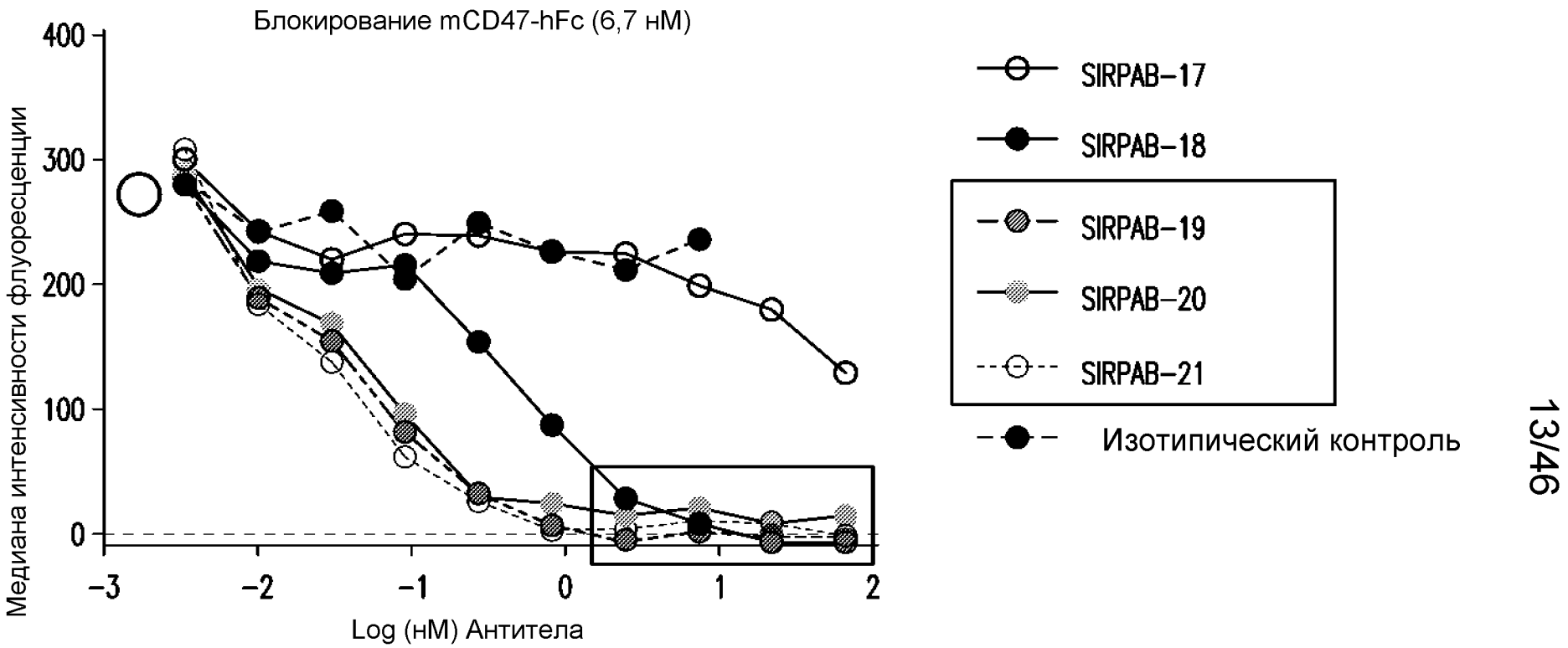

Связывание клеток C57BL/6-CD11b+
Медиана интенсивности флуоресценции
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
−2
−1
0
1
2
Log (нМ) Антитела
SIRPAB-17
SIRPAB-18
SIRPAB-19
SIRPAB-21
SIRPAB-20
Изотипический контроль

ФИГ. 5F

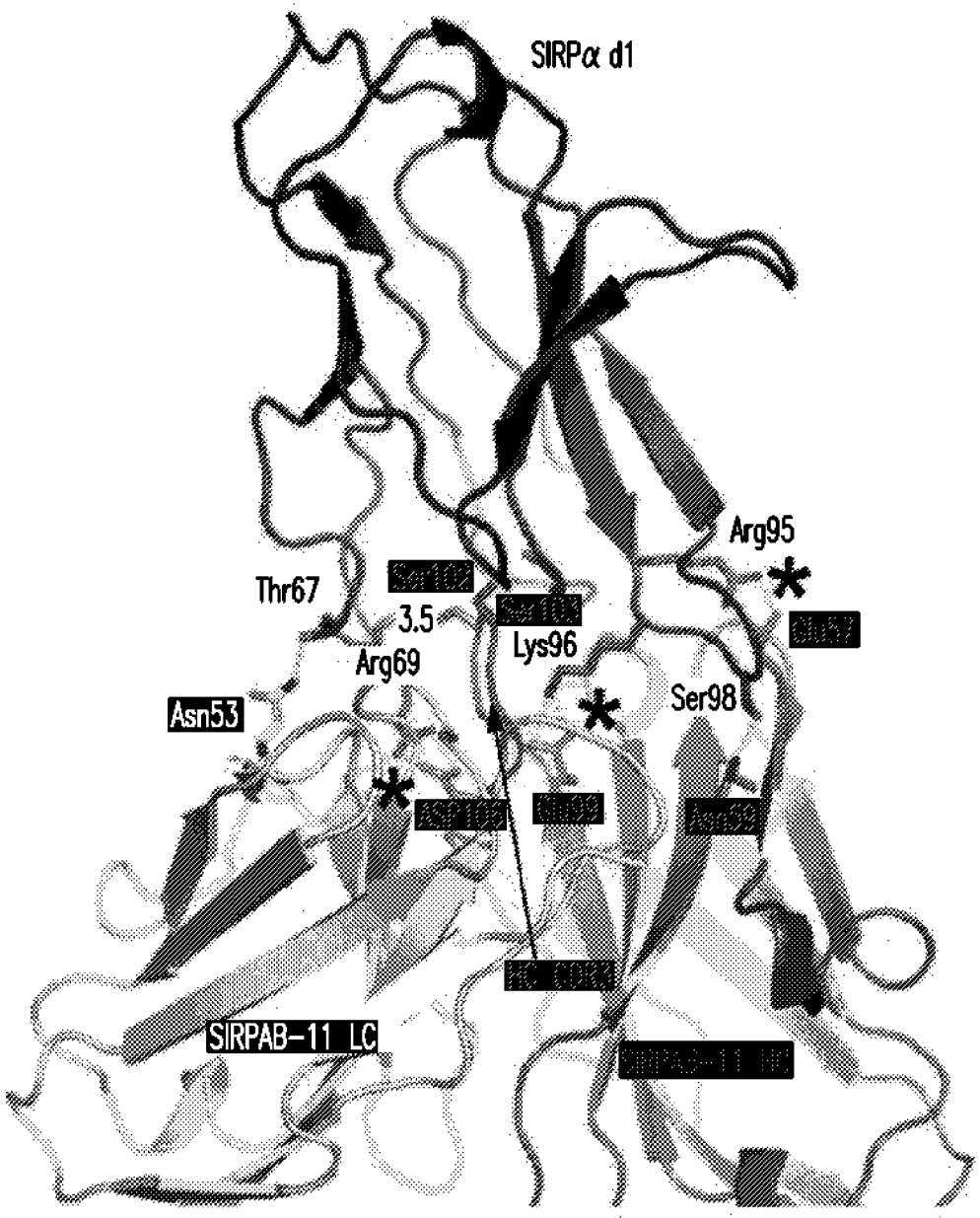


SIRPAB-11-K322A (нМ)	Ответ (EO)	Расчетная концентрация, связанная с равновесием (нМ)	Процент связывания CD47	Процент ингибирования
0	307.6	18.56	100	0
0.4	298.1	17.55	96.91	3.09
1.2	275.7	15.36	89.63	10.37
3.7	239.1	12.23	77.73	22.27
11.11	167	7.306	54.29	45.71
33.33	25	0.8135	8.13	91.87
100	7.9	0.2523	2.57	97.43

ФИГ. 6A

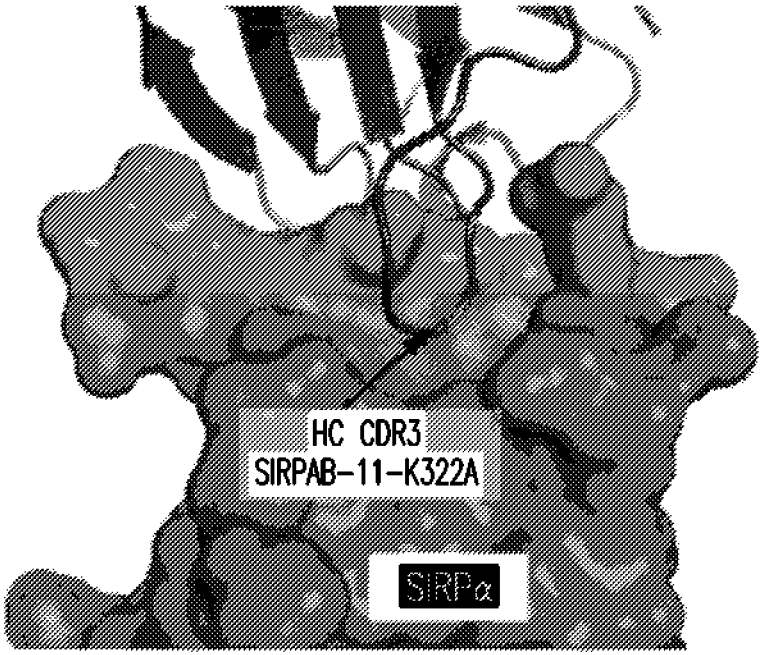

Блокирование mCD47-hFc (6,7 нМ)
Медиана интенсивности флуоресценции
400
300
200
100
0
−3
−2
−1
0
1
2
Log (нМ) Антитела
SIRPAB-17
SIRPAB-18
SIRPAB-19
SIRPAB-20
SIRPAB-21
Изотипический контроль

ФИГ. 6B

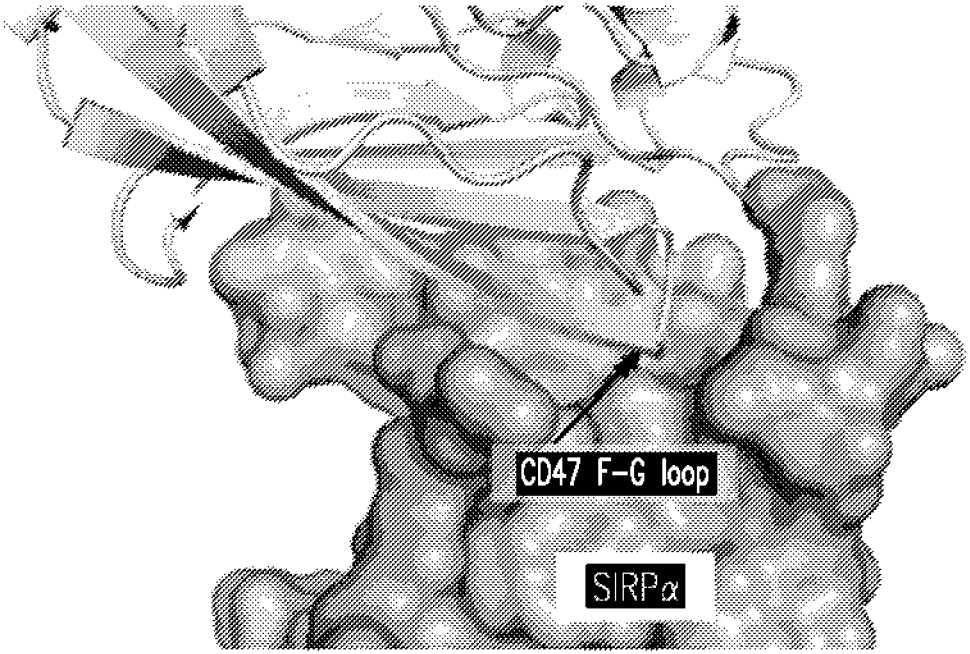


ФИГ. 7А

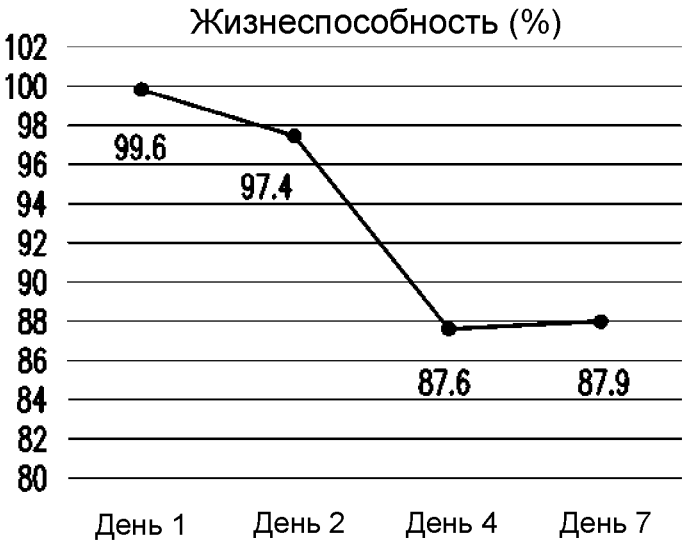
Комплекс
SIRPα/Fab

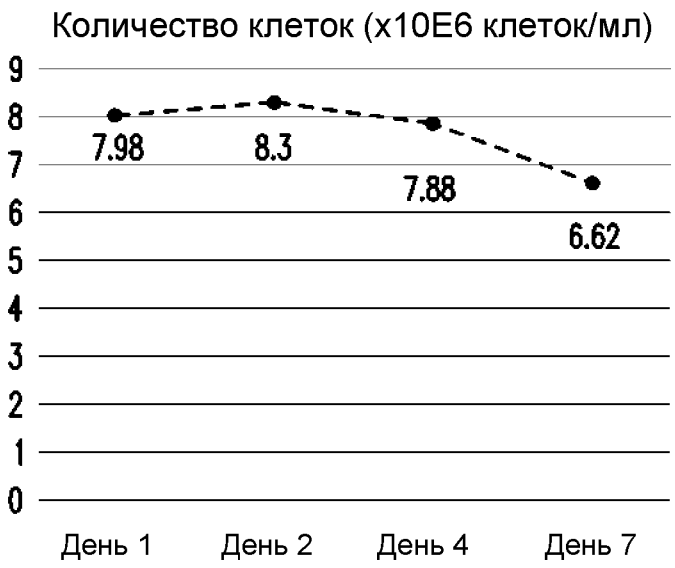


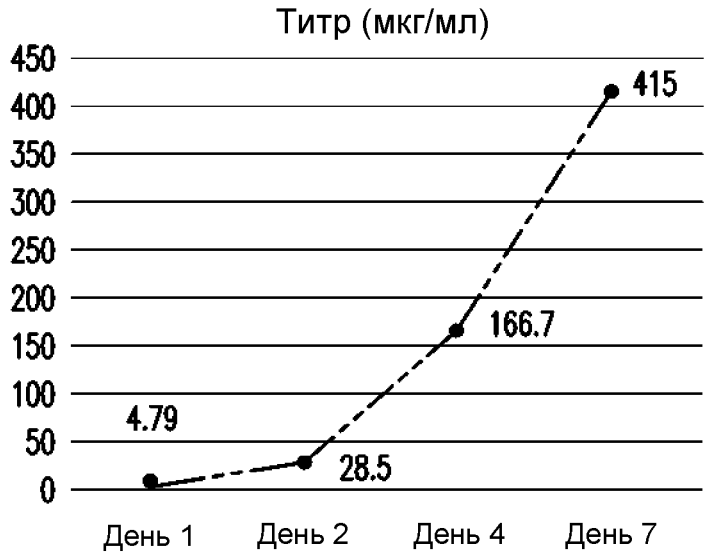
Комплекс
SIRPa/CD47



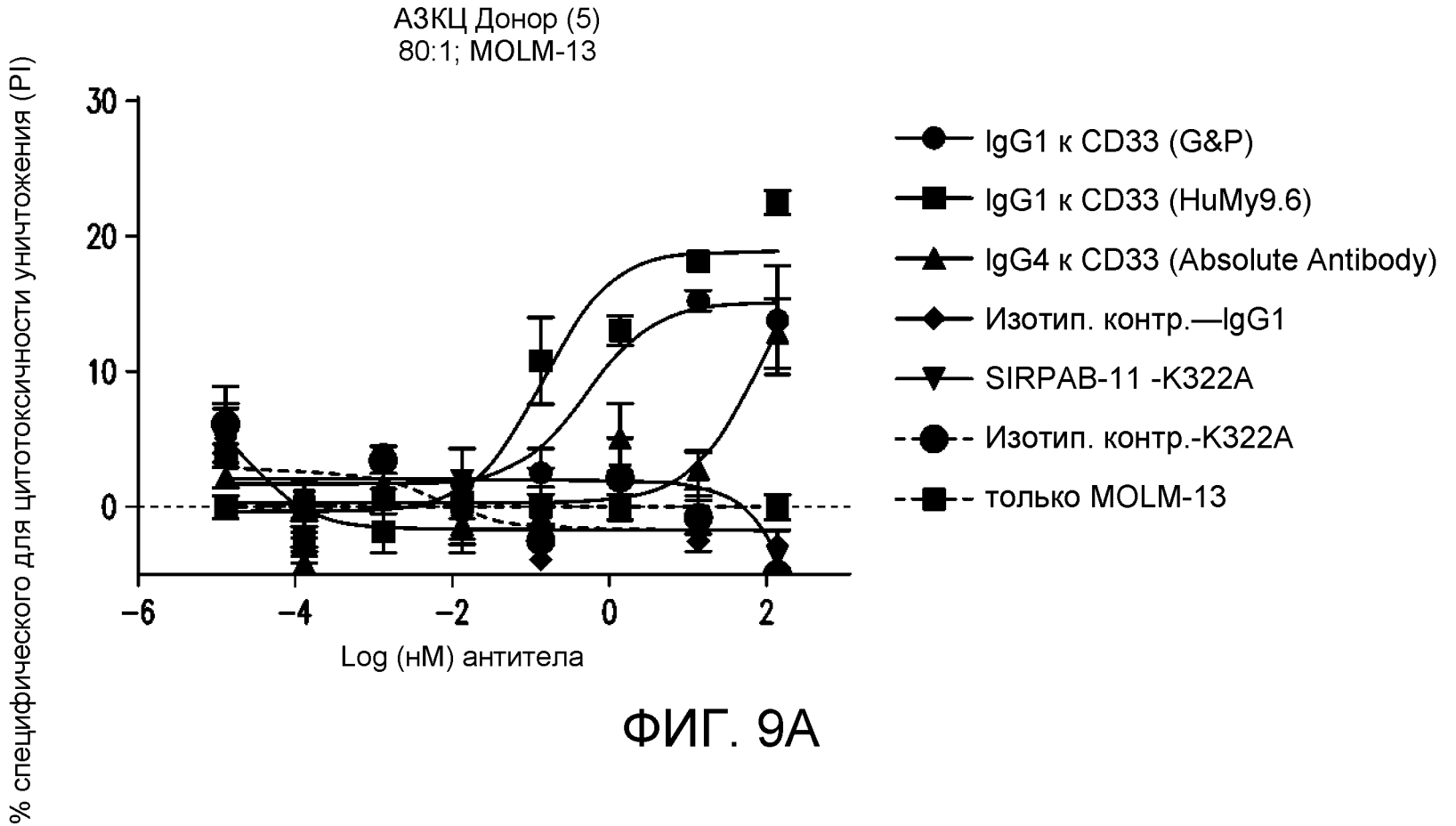
ФИГ. 7B


Жизнеспособность (%)
102
100
98
96
94
92
90
88
86
84
82
80
99.6
97.4
87.6
87.9
День 1
День 2
День 4
День 7

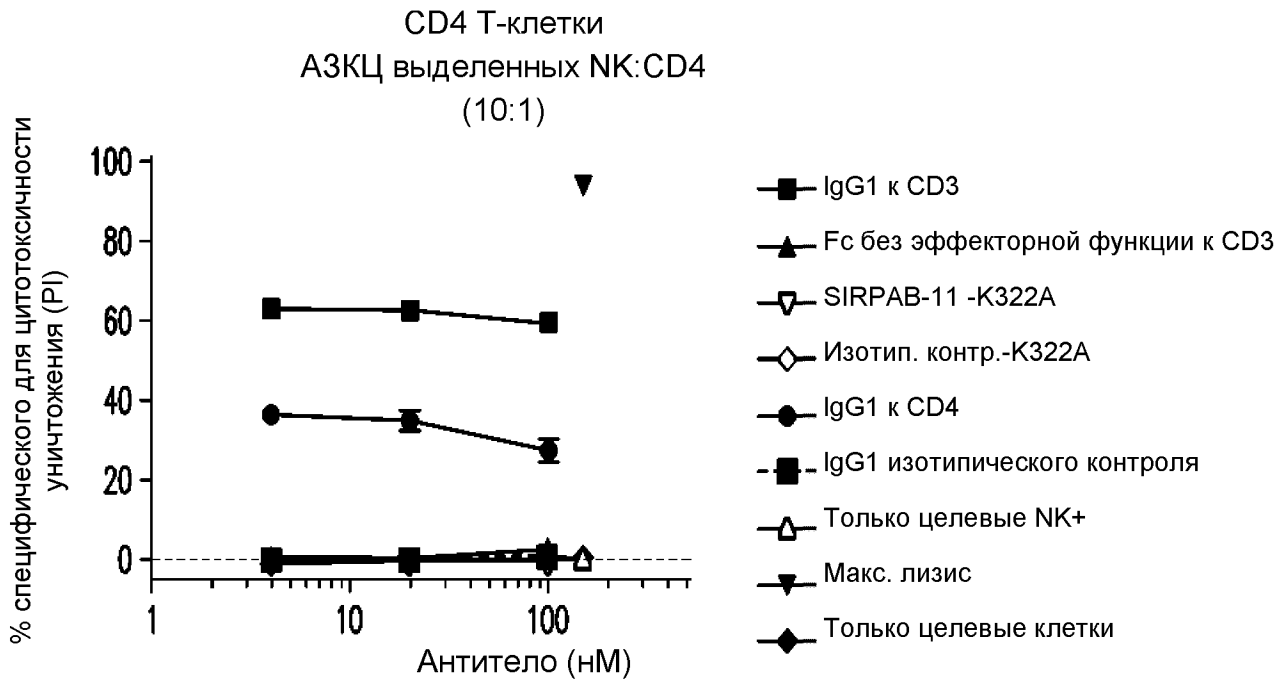

Количество клеток (x10E6 клеток/мл)
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
7.98
8.3
7.88
6.62
День 1
День 2
День 4
День 7


Титр (мкг/мл)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
415
166.7
4.79
28.5
День 1
День 2
День 4
День 7

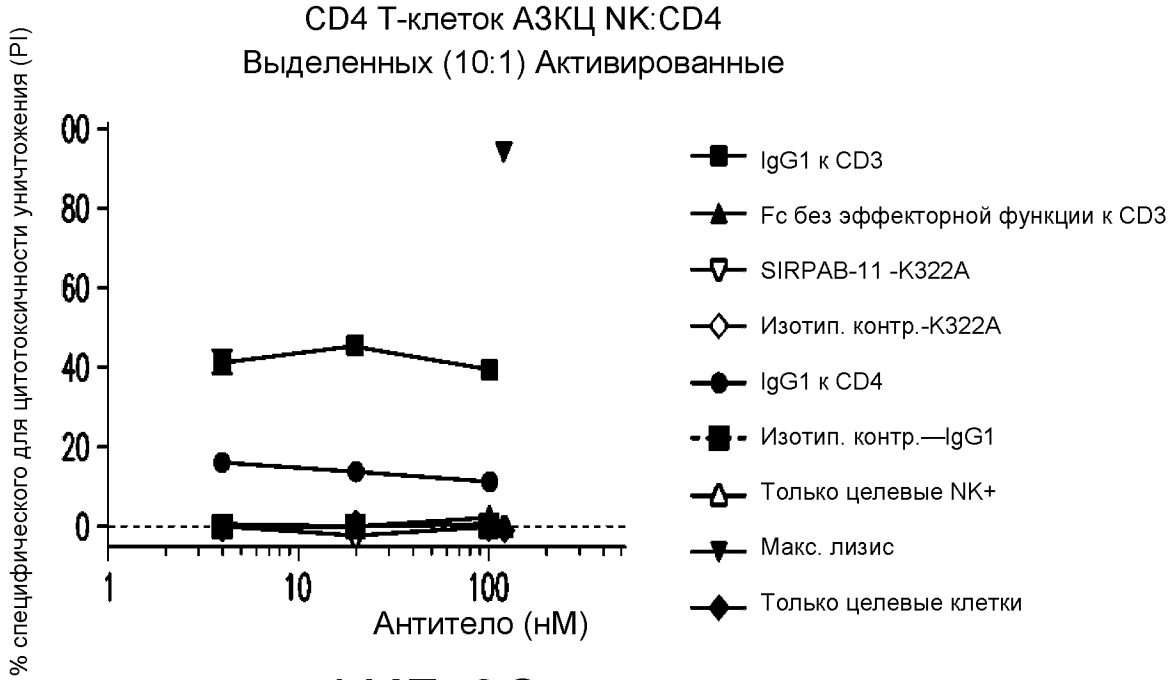
ФИГ. 8


АЗКЦ Донор (5)
80:1; MOLM-13
% специфического для цитотоксичности уничтожения (PI)
30
20
10
0
−6
−4
−2
0
2
Log (нМ) антитела
IgG1 к CD33 (G&P)
IgG1 к CD33 (HuMy9.6)
IgG4 к CD33 (Absolute Antibody)
Изотип. контр.—IgG1
SIRPAB-11 -K322A
Изотип. контр.-K322A
только MOLM-13

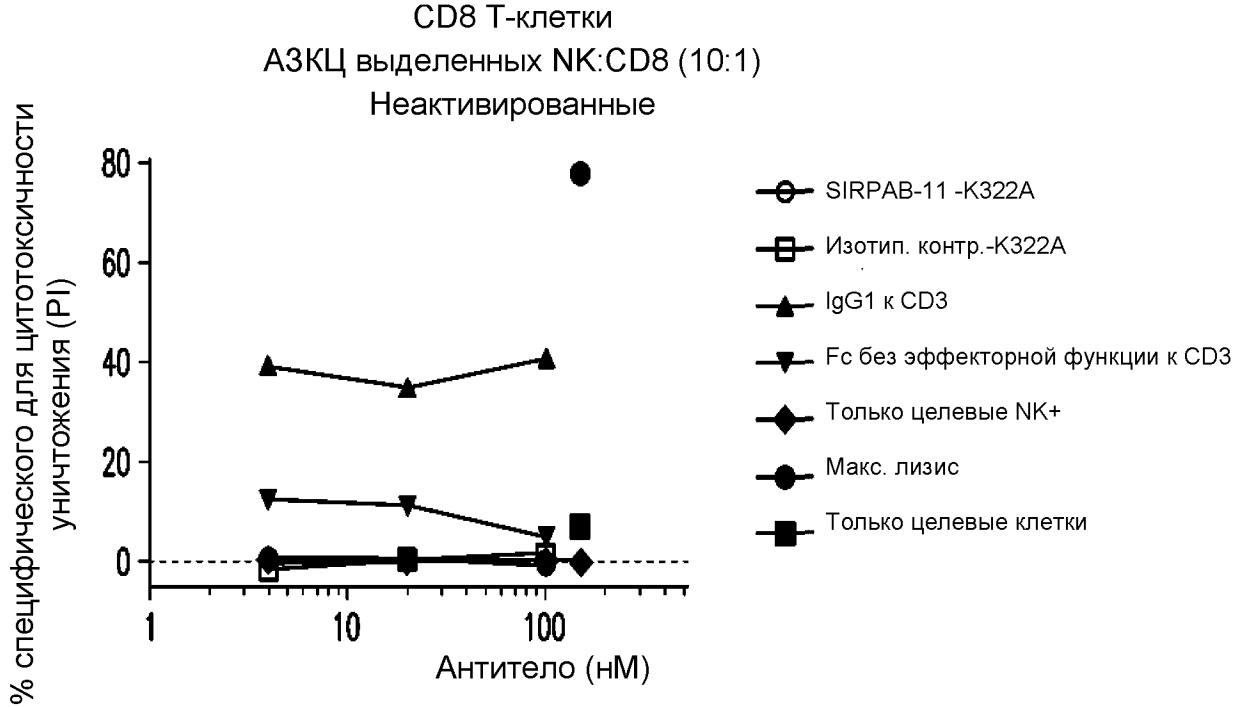
ФИГ. 9А


CD4 Т-клетки
АЗКЦ выделенных NK:CD4
(10:1)
% специфического для цитотоксичности уничтожения (PI)
100
80
60
40
20
0
1
10
100
Антитело (нМ)
IgG1 к CD3
Fc без эффекторной функции к CD3
SIRPAB-11 -K322A
Изотип. контр.-K322A
IgG1 к CD4
IgG1 изотипического контроля
Только целевые NK+
Макс. лизис
Только целевые клетки

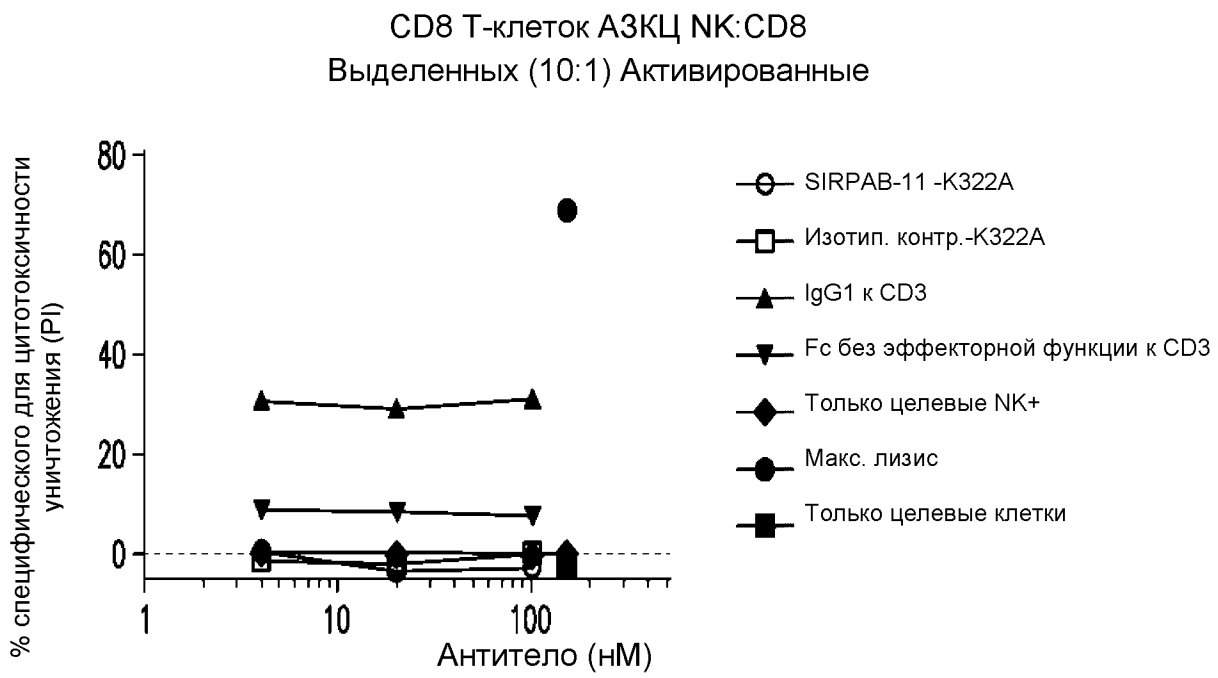
ФИГ. 9B


CD4 Т-клеток АЗКЦ NK:CD4
Выделенных (10:1) Активированные
% специфического для цитотоксичности уничтожения (PI)
00
80
60
40
20
0
1
10
100
Антитело (нМ)
IgG1 к CD3
Fc без эффекторной функции к CD3
SIRPAB-11 -K322A
Изотип. контр.-K322A
IgG1 к CD4
Изотип. контр.—IgG1
Только целевые NK+
Макс. лизис
Только целевые клетки

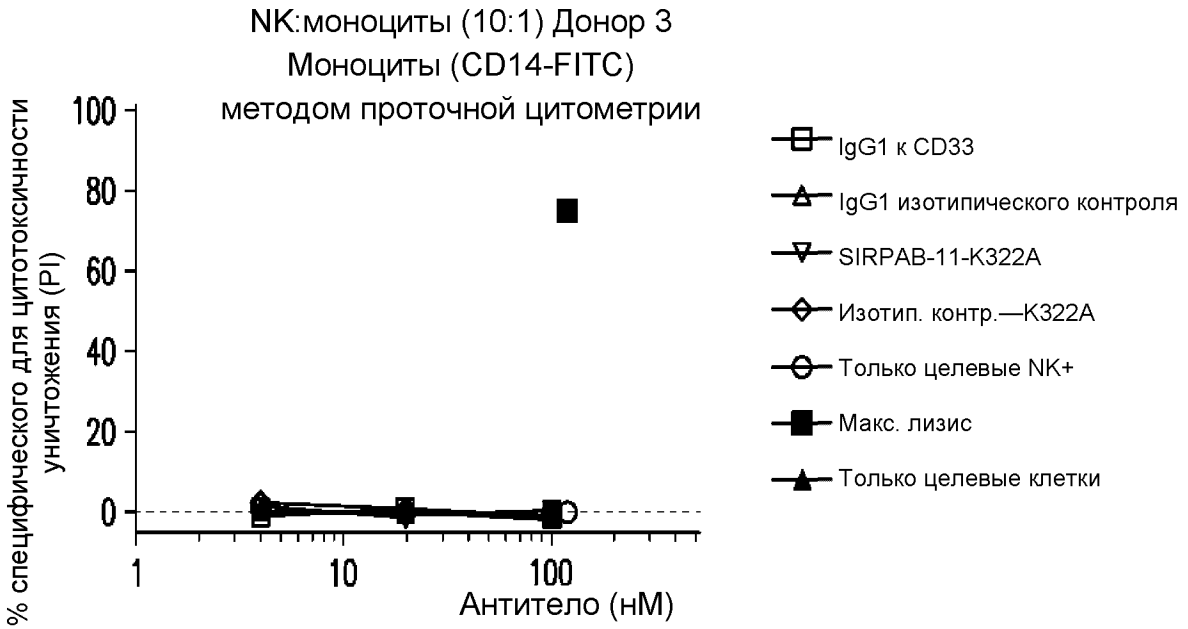
ФИГ. 9C


CD8 Т-клетки
АЗКЦ выделенных NK:CD8 (10:1)
Неактивированные
% специфического для цитотоксичности уничтожения (PI)
80
60
40
20
0
1
10
100
Антитело (нМ)
SIRPAB-11 -K322A
Изотип. контр.-K322A
IgG1 к CD3
Fc без эффекторной функции к CD3
Только целевые NK+
Макс. лизис
Только целевые клетки

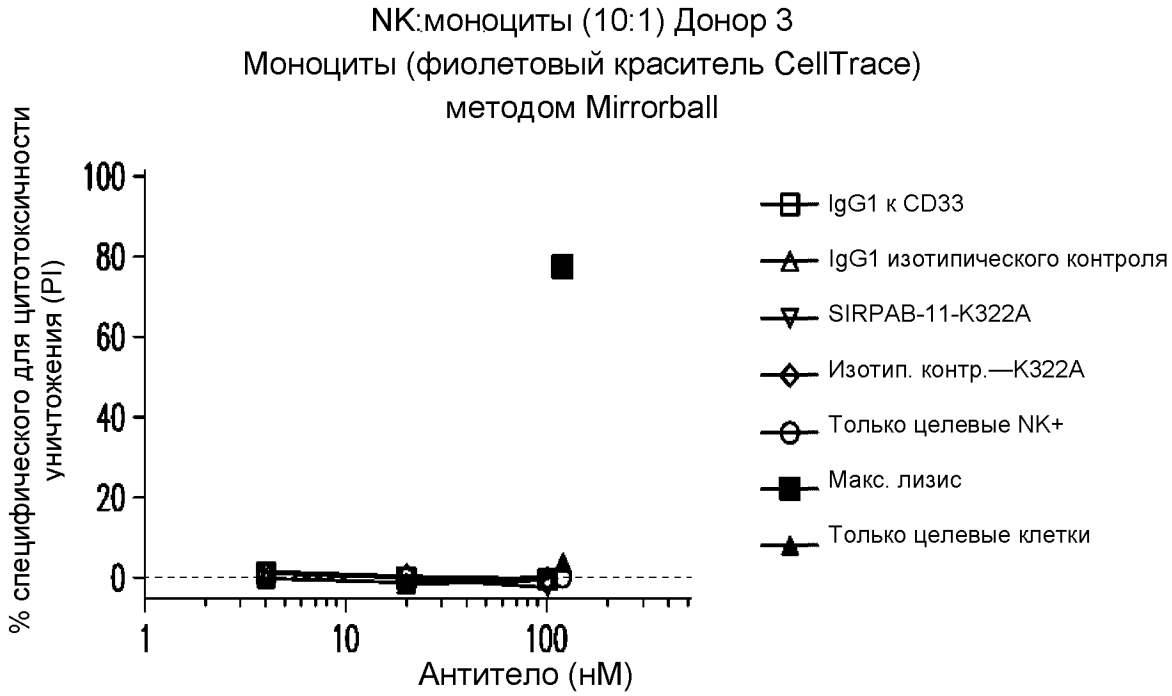
ФИГ. 9D


CD8 Т-клеток АЗКЦ NK:CD8
Выделенных (10:1) Активированные
% специфического для цитотоксичности уничтожения (PI)
80
60
40
20
0
1
10
100
Антитело (нМ)
SIRPAB-11 -K322A
Изотип. контр.-K322A
IgG1 к CD3
Fc без эффекторной функции к CD3
Только целевые NK+
Макс. лизис
Только целевые клетки

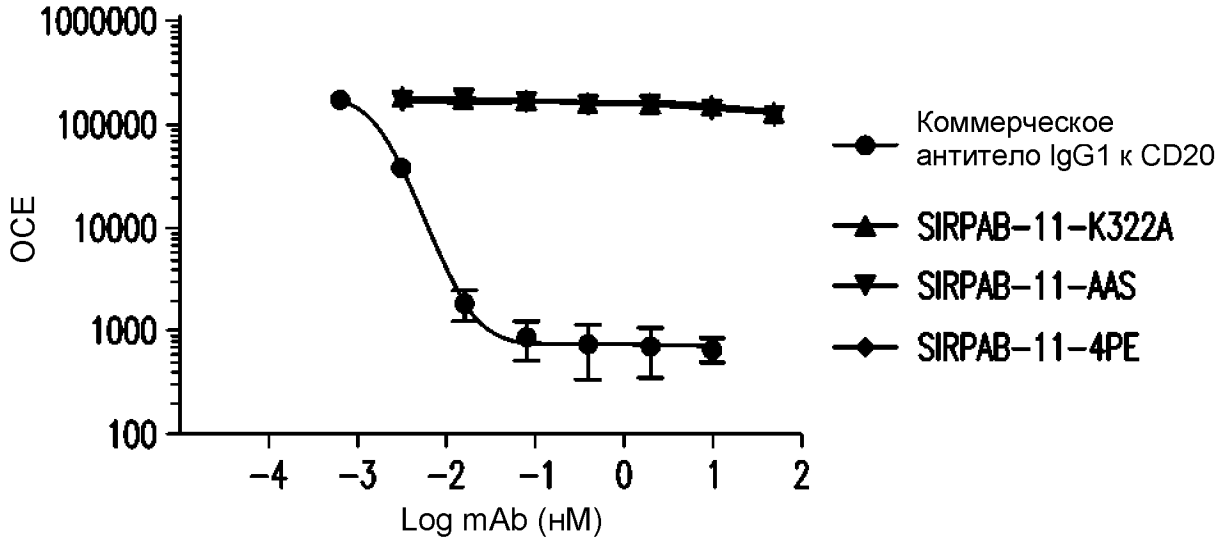
ФИГ. 9E


NK:моноциты (10:1) Донор 3
Моноциты (CD14-FITC)
методом проточной цитометрии
% специфического для цитотоксичности уничтожения (PI)
100
80
60
40
20
0
1
10
100
Антитело (нМ)
IgG1 к CD33
IgG1 изотипического контроля
SIRPAB-11-K322A
Изотип. контр.—K322A
Только целевые NK+
Макс. лизис
Только целевые клетки

ФИГ. 9F

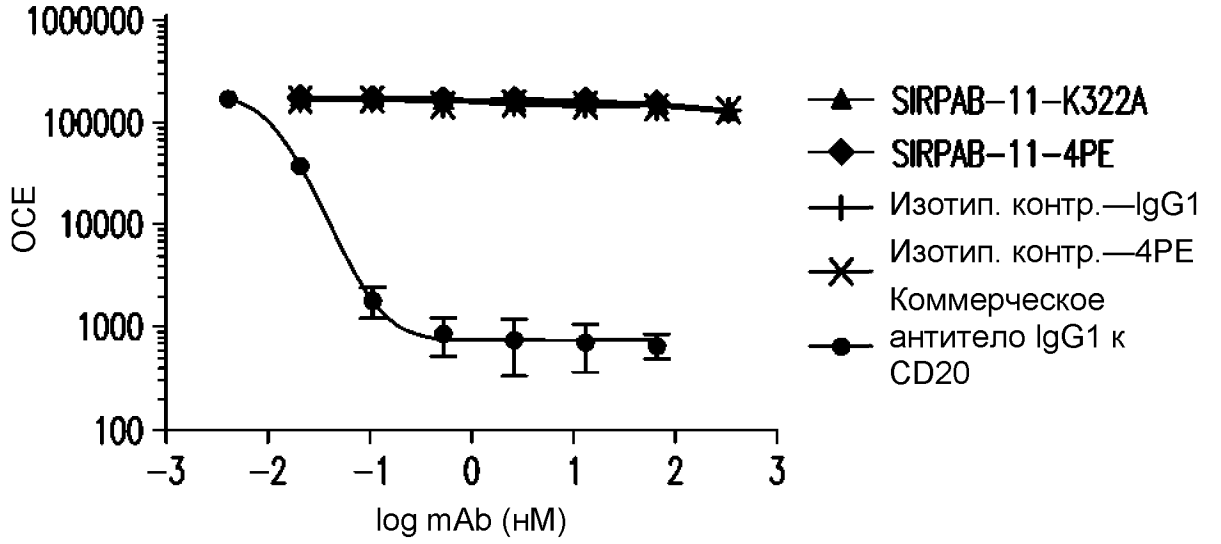

NK:моноциты (10:1) Донор 3
Моноциты (фиолетовый краситель CellTrace)
методом Mirrorball
% специфического для цитотоксичности уничтожения (PI)
100
80
60
40
20
0
1
10
100
Антитело (нМ)
IgG1 к CD33
IgG1 изотипического контроля
SIRPAB-11-K322A
Изотип. контр.—K322A
Только целевые NK+
Макс. лизис
Только целевые клетки

ФИГ. 9G

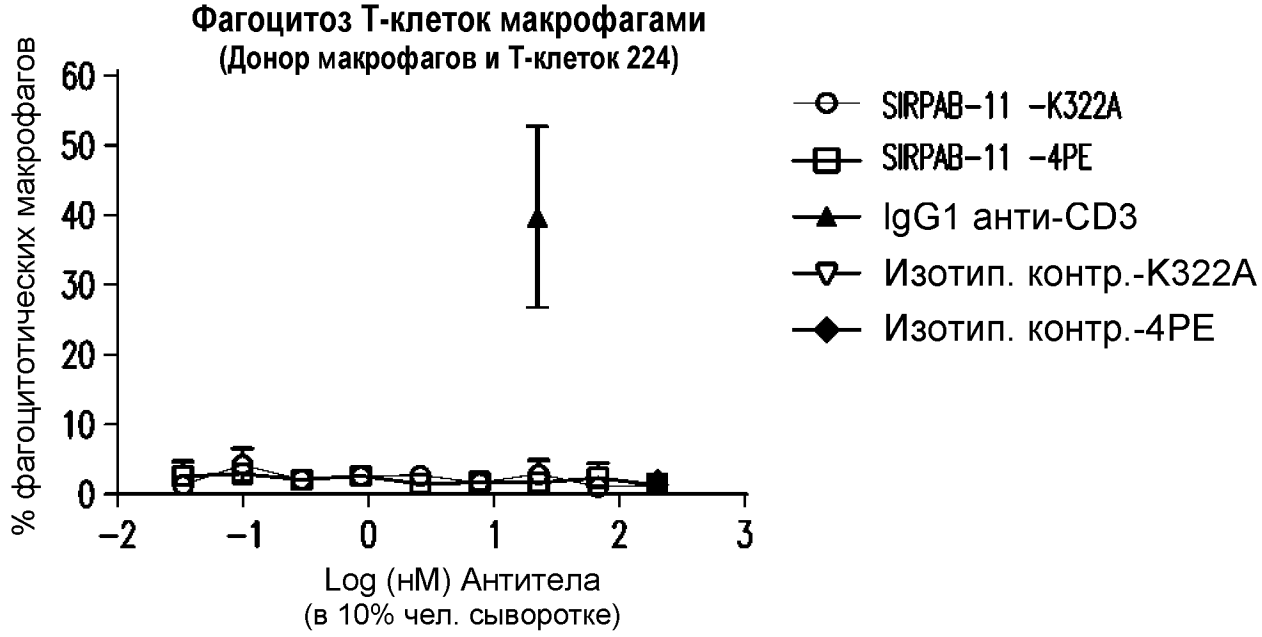


	Коммерческое антитело IgG1 к CD20	SIRPAB-11-K322A	SIRPAB-11-AAS	SIRPAB-11-4PE
IC50	0.001726	~6.1e+016	~571672557027	~6767994

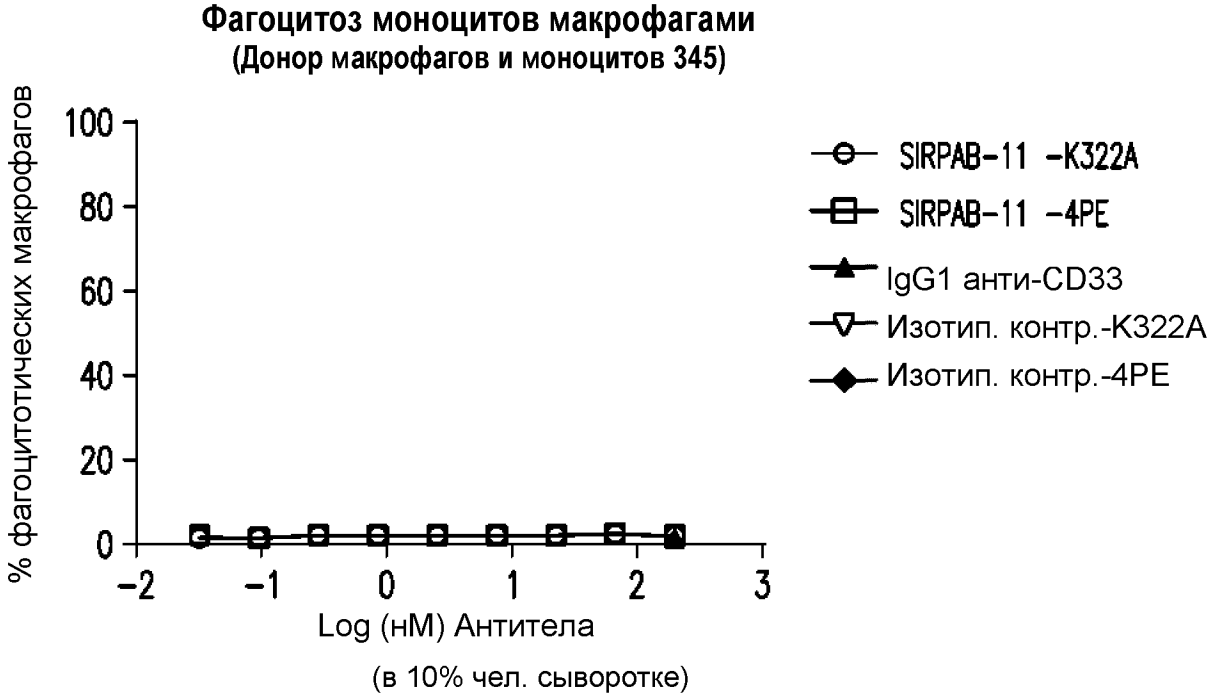
ФИГ. 9H



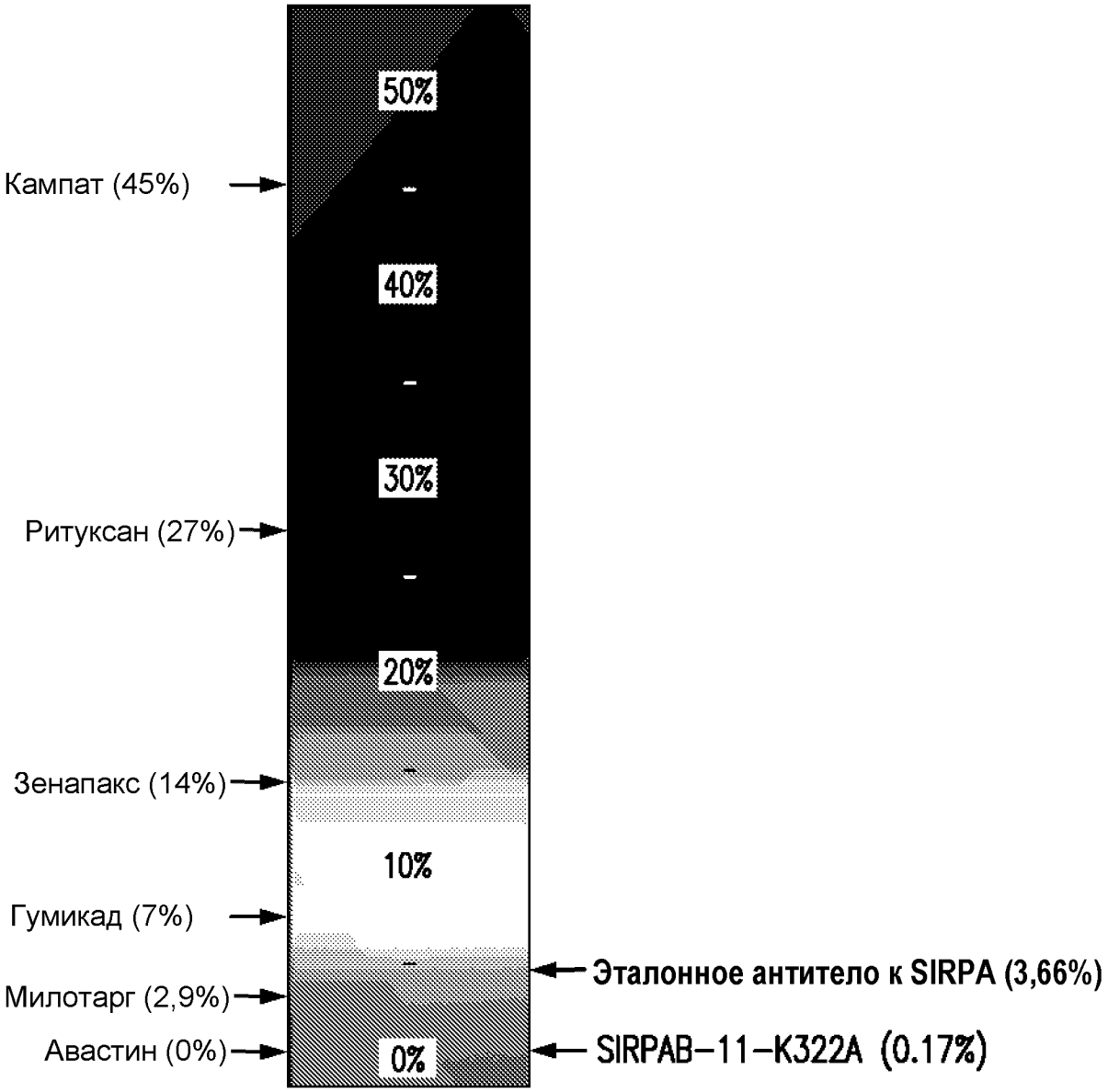
ФИГ. 9I


Фагоцитоз Т-клеток макрофагами
(Донор макрофагов и Т-клеток 224)
% фагоцитотических макрофагов
60
50
40
30
20
10
0
−2
−1
0
1
2
3
Log (нМ) Антитела
(в 10% чел. сыворотке)
SIRPAB-11 -K322A
SIRPAB-11 -4PE
IgG1 анти-CD3
Изотип. контр.-K322A
Изотип. контр.-4PE

ФИГ. 9J


Фагоцитоз моноцитов макрофагами
(Донор макрофагов и моноцитов 345)
% фагоцитотических макрофагов
100
80
60
40
20
0
−2
−1
0
1
2
3
Log (нМ) Антитела
(в 10% чел. сыворотке)
SIRPAB-11 -K322A
SIRPAB-11 -4PE
IgG1 анти-CD33
Изотип. контр.-K322A
Изотип. контр.-4PE

ФИГ. 9K


50%
40%
30%
20%
10%
0%
Кампат (45%)
Ритуксан (27%)
Зенапакс (14%)
Гумикад (7%)
Милотарг (2,9%)
Авастин (0%)
Эталонное антитело к SIRPA (3,66%)
SIRPAB-11-K322A (0.17%)

ФИГ. 10A

Категор. иммуногенные потенциалы

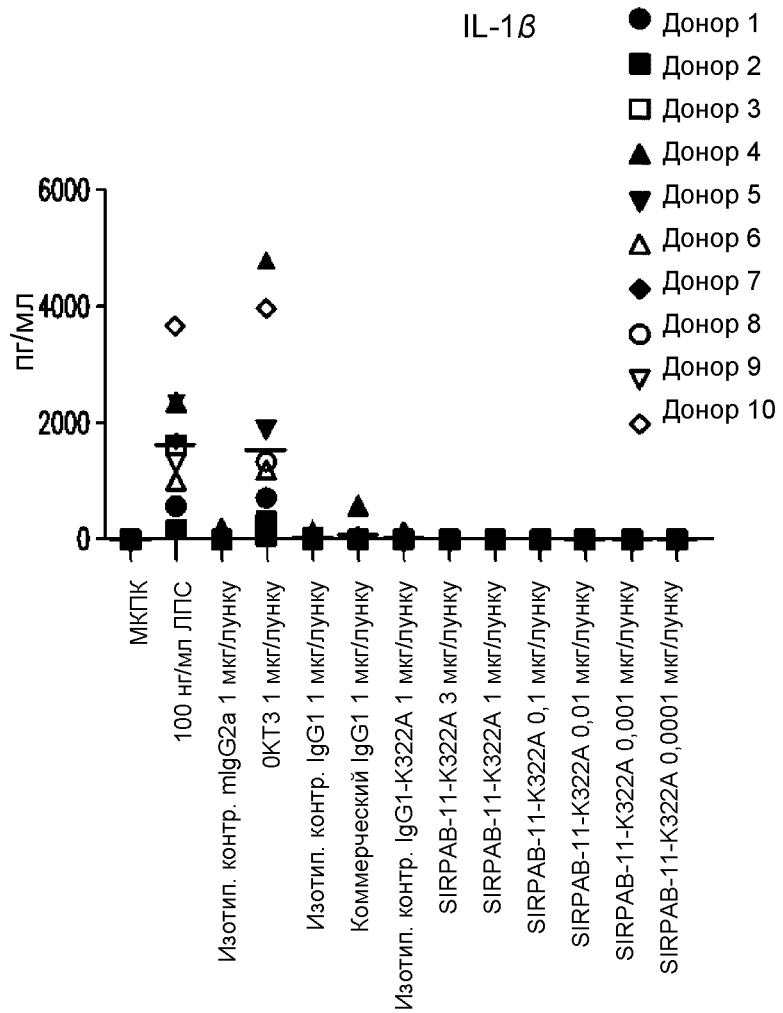
Оптимальные антитела (низкое содержание эффекторов - высокое содержание Treg-эпитопов)				
Антитело	Оценка белка EpiMatrix, скорректированная по Treg-эпитопу	Содержание Treg-эпитопа 2	Прогнозируемый ответ антитела	Наблюдаемый ответ антитела
Герцептин	-66,56	75,26	0,00%	0,10%
SIPRAB-11-K322A	-38,19	41,10	0,17%	н/п
Авастин	-31,62	67,57	0,65%	0,00%
Антитела с низким риском (низкое содержание эффекторов - низкое содержание Treg-эпитопов)				
Антитело	Оценка белка EpiMatrix, скорректированная по Treg-эпитопу 1	Содержание Treg-эпитопа 2	Прогнозируемый ответ антитела	Наблюдаемый ответ антитела
Тисабри	-12,71	15,70	6,16%	7,00%
Гумикад	-3,97	17,29	10,79%	7,00%
Смешанные антитела (высокое содержание эффекторов - высокое содержание Treg-эпитопов)				
Антитело	Оценка белка EpiMatrix, скорректированная по Treg-эпитопу 1	Содержание Treg-эпитопа 2	Прогнозируемый ответ антитела	Наблюдаемый ответ антитела
Кампат	22,94	21,73	33,27%	45,00%
Антитела с высоким риском (высокое содержание эффекторов - низкое содержание Treg-эпитопов)				
Антитело	Оценка белка EpiMatrix, скорректированная по Treg-эпитопу 1	Содержание Treg-эпитопа 2	Прогнозируемый ответ антитела	Наблюдаемый ответ антитела
Ремикейд	14,40	2,48	24,79%	26,00%
Ритуксан	22,53	0,00	32,84%	27,00%

[1] Скорректированная по Treg-эпитопу оценка EpiMatrix: Значения больше нуля означают высокое содержание эффекторных эпитопов

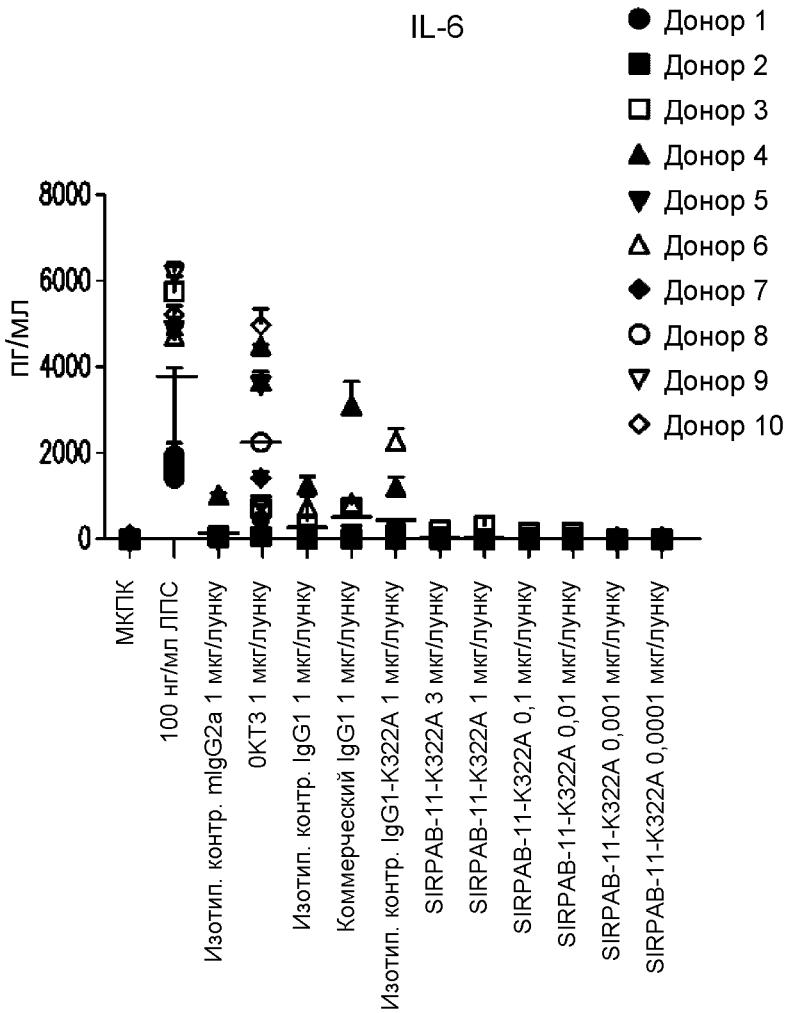
[2] Содержание Treg-эпитопов: Значения больше +20 означают высокое содержание Treg-эпитопов.

[3] Наблюдаемая иммуногенность эрбитукса недооценена, согласно листку-вкладышу.

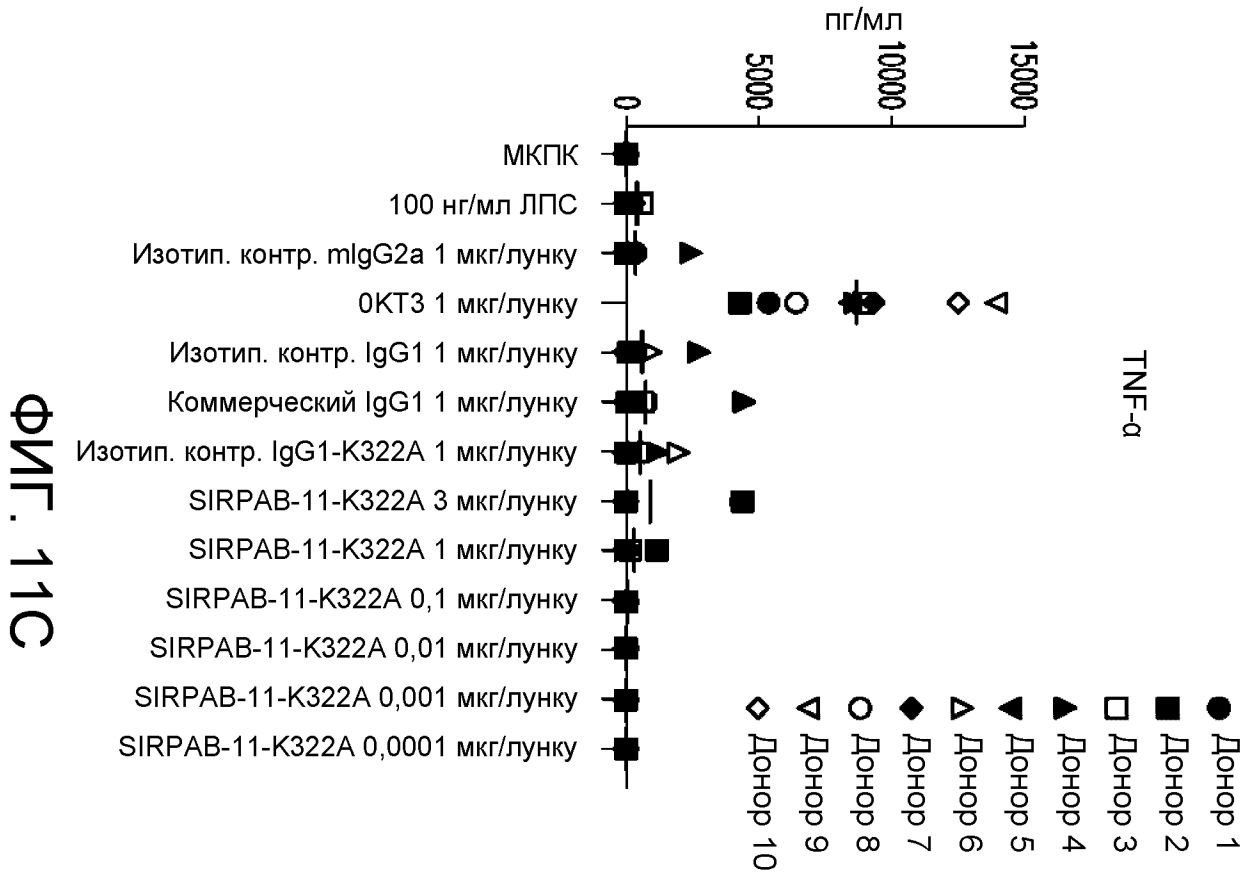
ФИГ. 10В



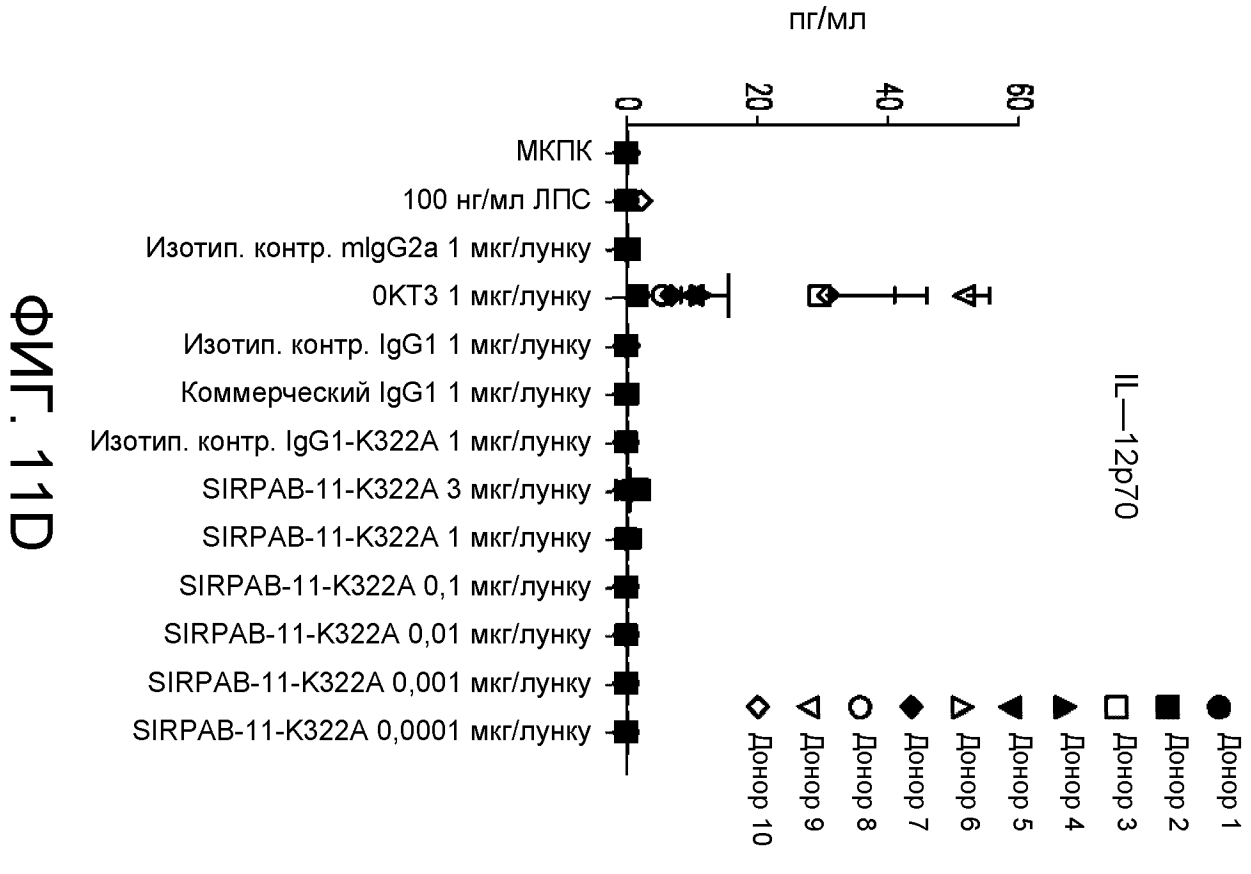
ФИГ. 11A



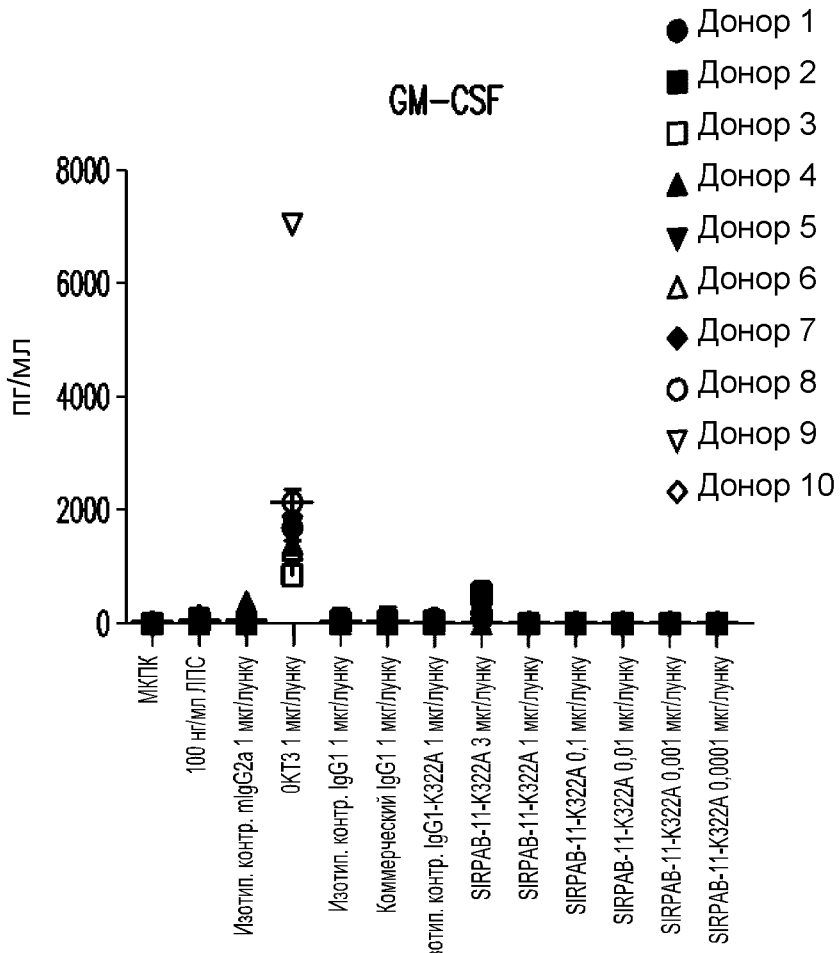
ФИГ. 11B



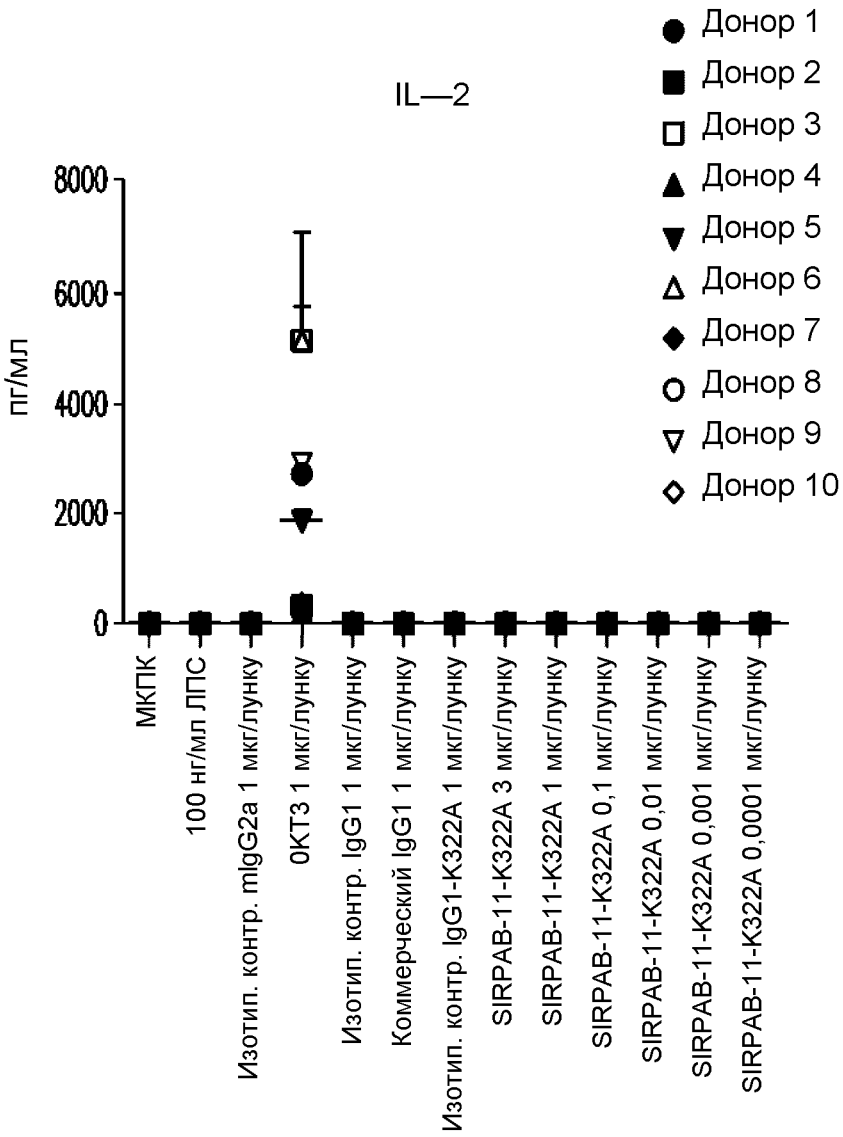
ФИГ. 11C



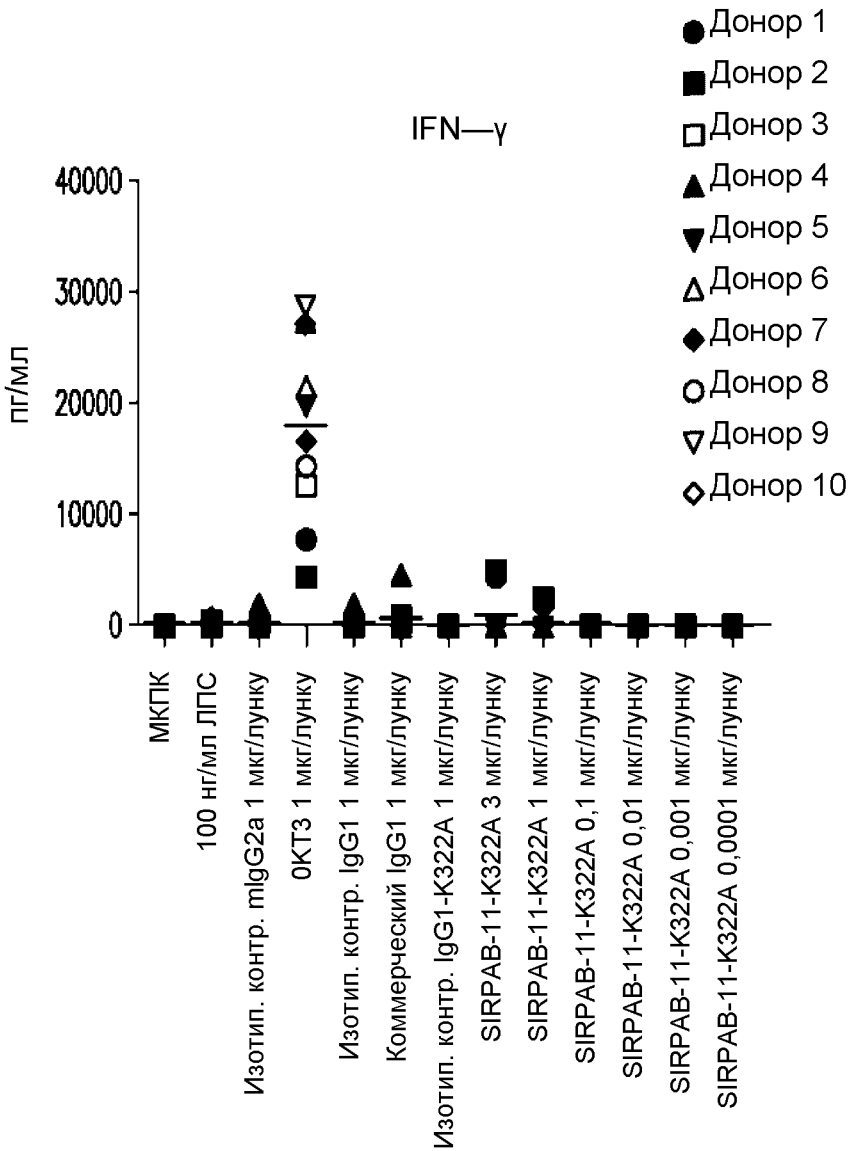
ФИГ. 11D



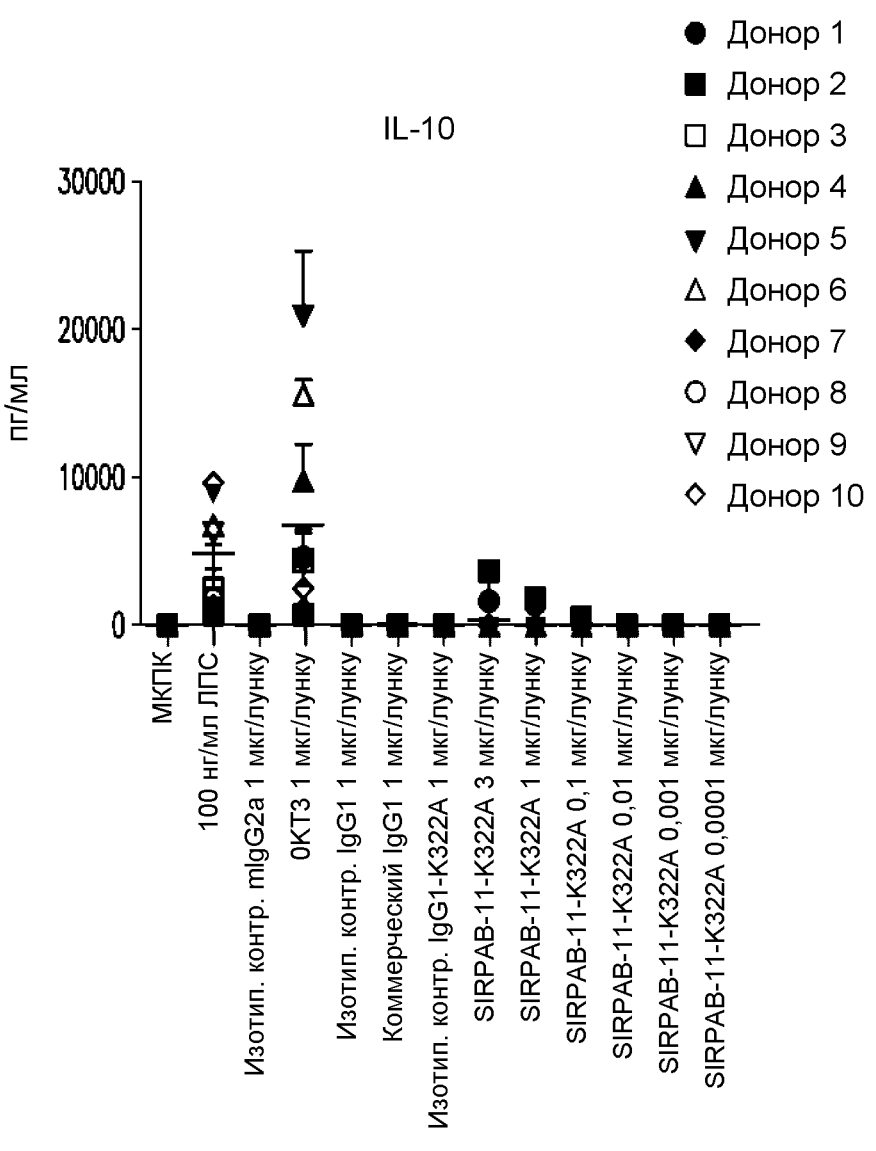
ФИГ. 11E



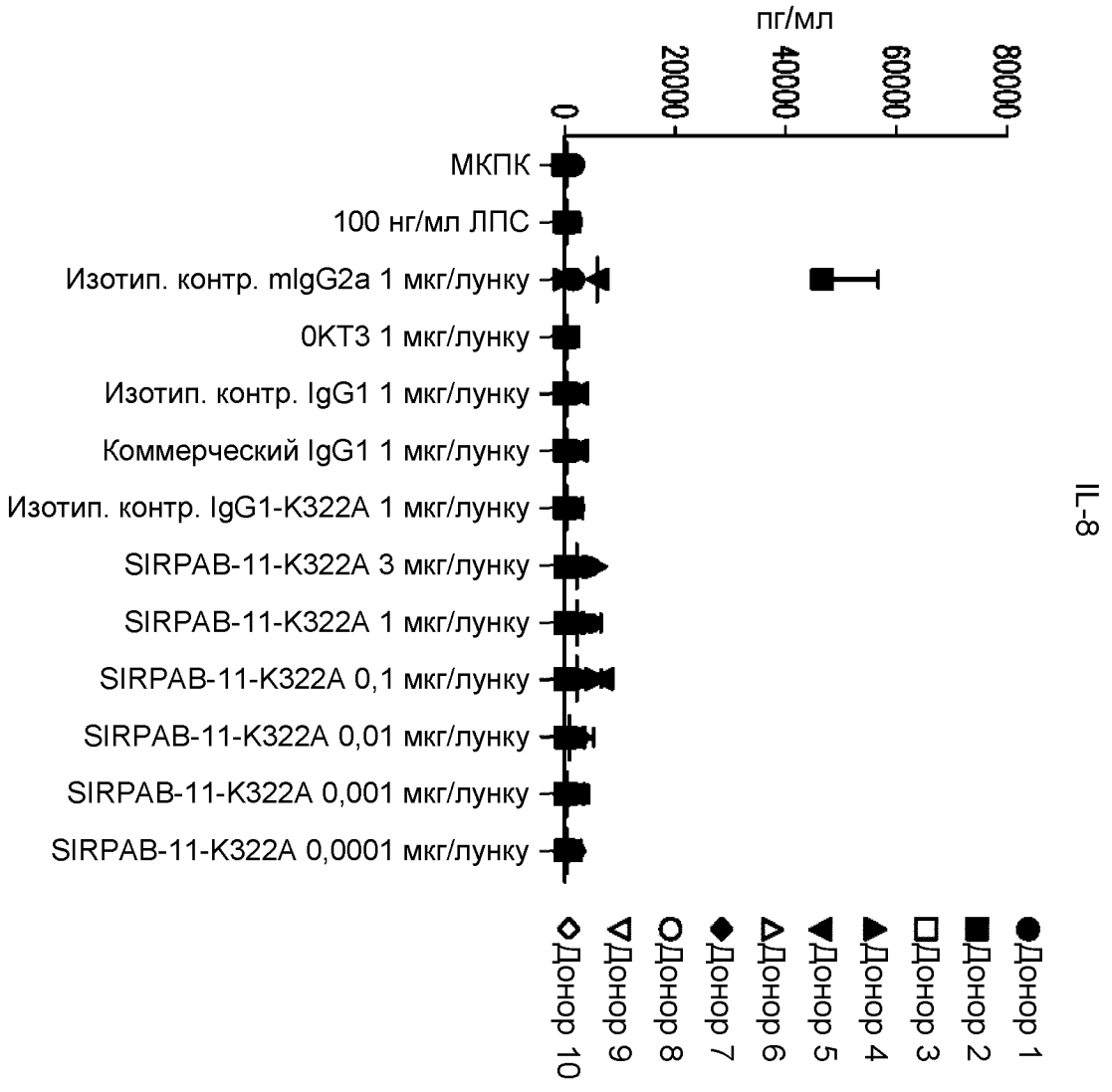
ФИГ. 11F



ФИГ. 11G



ФИГ. 11H


пг/мл
0
20000
40000
60000
80000
МКПК
100 нг/мл ЛПС
Изотип. контр. mIgG2a 1 мкг/лунку
0KT3 1 мкг/лунку
Изотип. контр. IgG1 1 мкг/лунку
Коммерческий IgG1 1 мкг/лунку
Изотип. контр. IgG1-K322A 1 мкг/лунку
SIRPAB-11-K322A 3 мкг/лунку
SIRPAB-11-K322A 1 мкг/лунку
SIRPAB-11-K322A 0,1 мкг/лунку
SIRPAB-11-K322A 0,01 мкг/лунку
SIRPAB-11-K322A 0,001 мкг/лунку
SIRPAB-11-K322A 0,0001 мкг/лунку
●Донор 1
■Донор 2
□Донор 3
▲Донор 4
◀Донор 5
△Донор 6
◆Донор 7
○Донор 8
▽Донор 9
◇Донор 10
IL-8

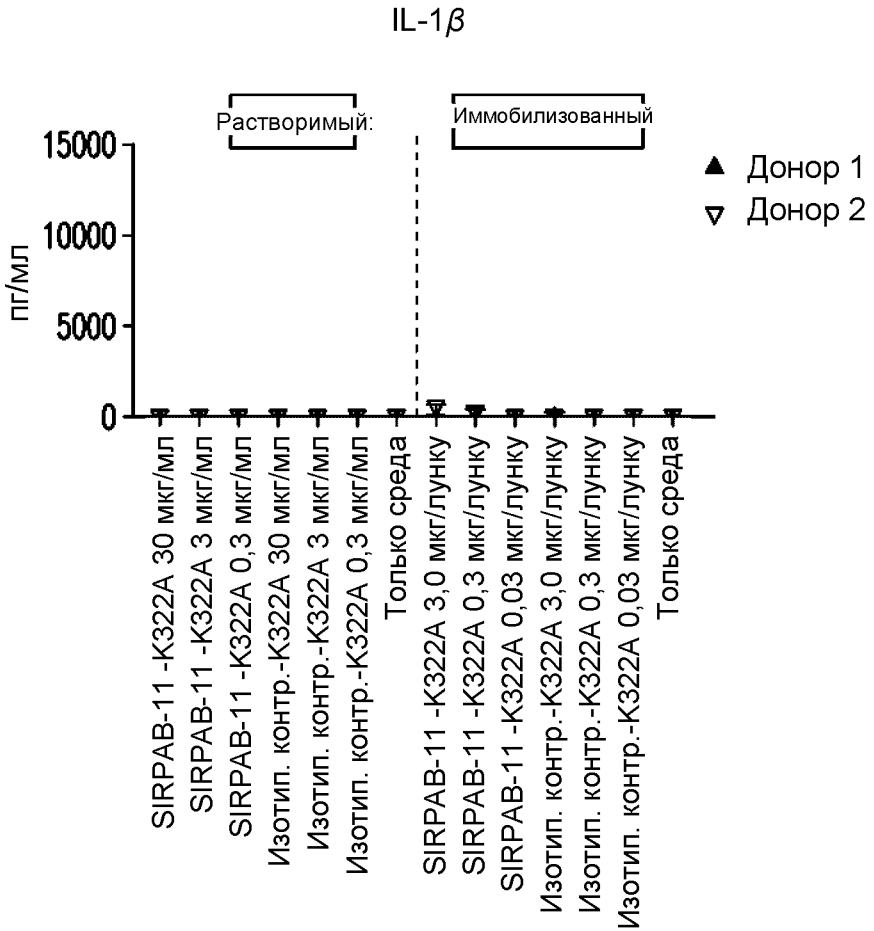
ФИГ. 11I

	ГМ-КСФ			IFN-γ			IL-10			IL—12p70			IL-1B			
	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	N
МКПК	1	1	нз	5	7	нз	3	3	нз	0	0	нз	1	3	нз	10
100 нг/мл ЛПС	25	30	нз	231	229	нз	493	308	**	0	1	нз	1381	967	*	10
Изотип. контр. mIgG2a 1 мкг/лунку	21	28	нз	220	591	нз	0	20	нз	0	0	нз	28	69	нз	10
OKT3 1 мкг/лунку	2159	1763	*	17730	8302	***	684	665	нз	16	16	нз	1539	1626	нз	10
Коммерческий IgG1 1 мкг/лунку	42	41	нз	186	504	нз	0	1	нз	0	0	нз	36	56	нз	10
Изотип. контр. IgG1-K322A 1 мкг/лунку	56	75	нз	601	1396	нз	1	1	нз	0	0	нз	77	184	нз	10
SIRPAB-11-K322A 3 мкг/лунку	42	42		18	28		1	1		0	0		45	49		10
SIRPAB-11-K322A 1 мкг/лунку	79	166	нз	925	1946	нз	54	123	нз	0	1	нз	14	15	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,1 мкг/лунку	15	19	нз	456	955	нз	27	62	нз	0	0	нз	8	8	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,01 мкг/лунку	5	6	нз	105	214	нз	10	23	нз	0	0	нз	3	5	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,001 мкг/лунку	4	10	нз	27	47	нз	3	3	нз	0	0	нз	2	4	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,0001 мкг/лунку	1	1	нз	3	3	нз	3	3	нз	0	0	нз	0	1	нз	10
	0	0	нз	2	2	нз	3	3	нз	0	0	нз	0	0	нз	10

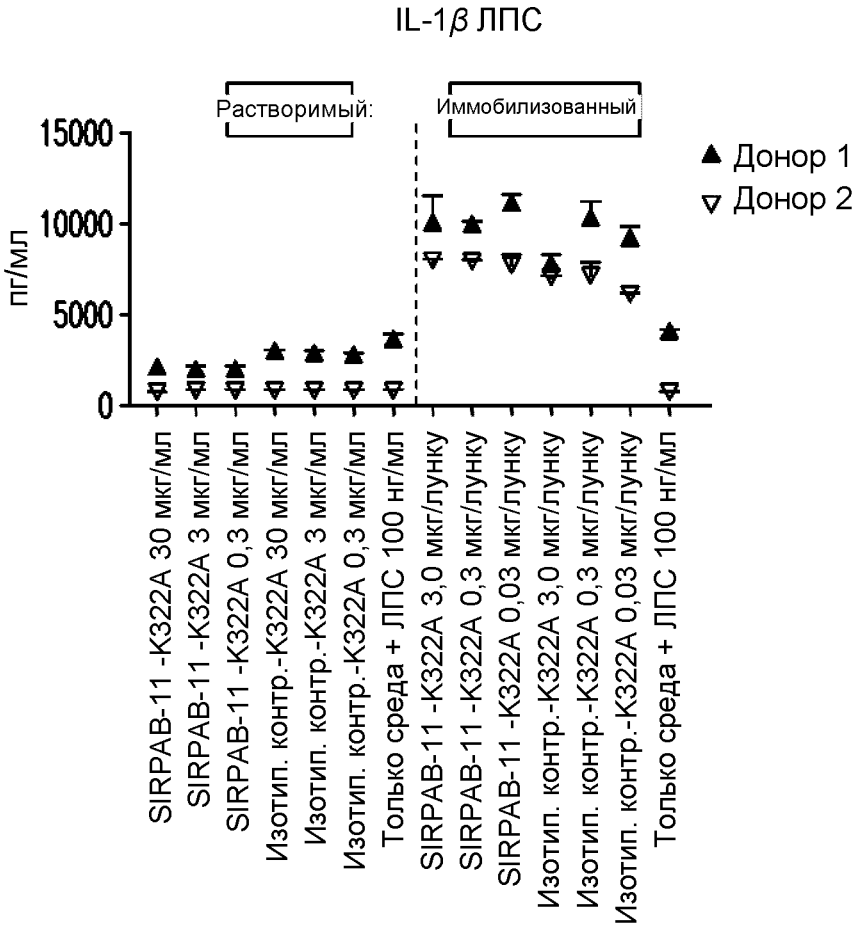
	IL—2			IL—6			IL—8			TNF-a			
	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	Среднее значение	СЗ	Сравнение*	N
МКПК	9	6	нз	14	24	нз	621	501	нз	122	344	нз	10
100 нг/мл ЛПС	6	6	нз	3789	1925	**	474	294	нз	327	223	нз	10
Изотип. контр. mIgG2a 1 мкг/лунку	5	5	нз	151	312	нз	6037	14379	нз	1151	1894	нз	10
OKT3 1 мкг/лунку	1882	2019	нз	2247	1796	*	265	114	нз	6082	3463	*	10
Коммерческий IgG1 1 мкг/лунку	4	2	нз	305	412	нз	796	659	нз	950	919	нз	10
Изотип. контр. IgG1-K322A 1 мкг/лунку	6	4	нз	519	942	нз	784	652	нз	1092	1369	нз	10
SIRPAB-11-K322A 3 мкг/лунку	5	4	V//.	443	733		640	470		804	728		10
SIRPAB-11-K322A 1 мкг/лунку	10	12	нз	69	71	нз	2267	1918	нз	1133	1758	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,1 мкг/лунку	7	6	нз	71	109	нз	2288	1822	нз	606	858	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,01 мкг/лунку	7	6	нз	42	63	нз	2449	2193	нз	793	2125	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,001 мкг/лунку	8	7	нз	29	63	нз	903	763	нз	57	84	нз	10
SIRPAB-11-K322A 0,0001 мкг/лунку	9	6	нз	7	7	нз	758	836	нз	17	29	*	10
	7	5	нз	6	7	нз	596	610	нз	20	38	*	10

Однофакторный анализ ANOVA
Даннетт
Нз = не значимо

ФИГ. 11J



ФИГ. 12A

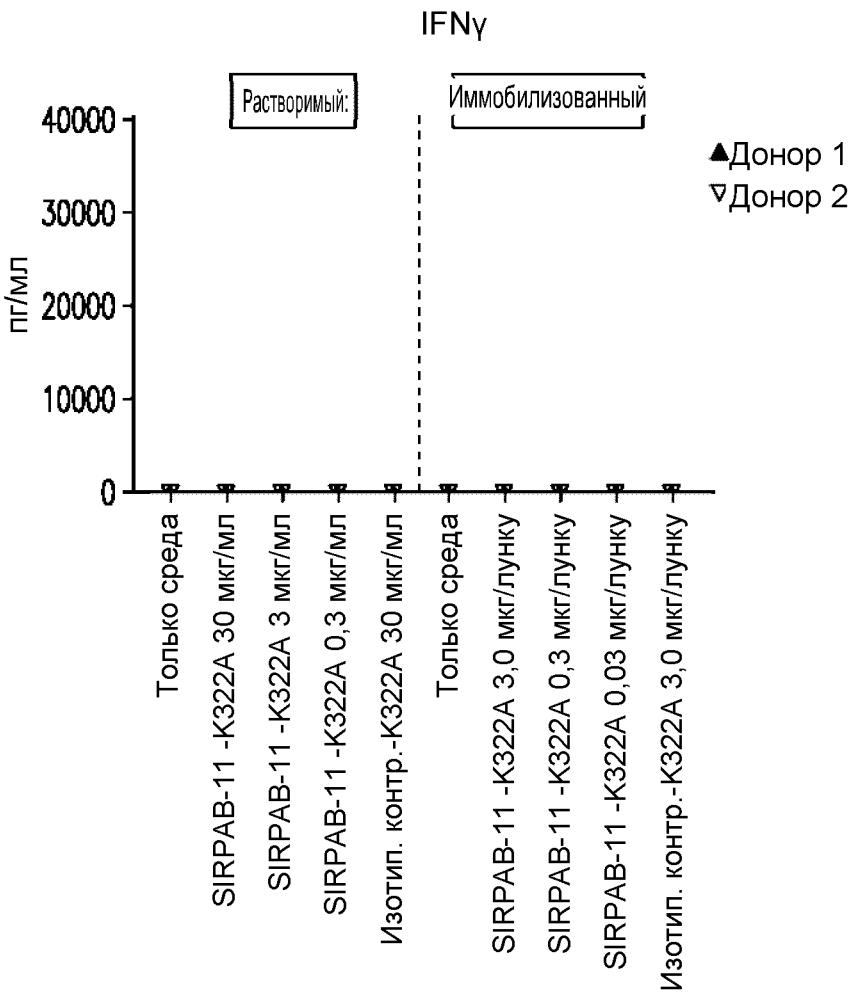


ФИГ. 12B

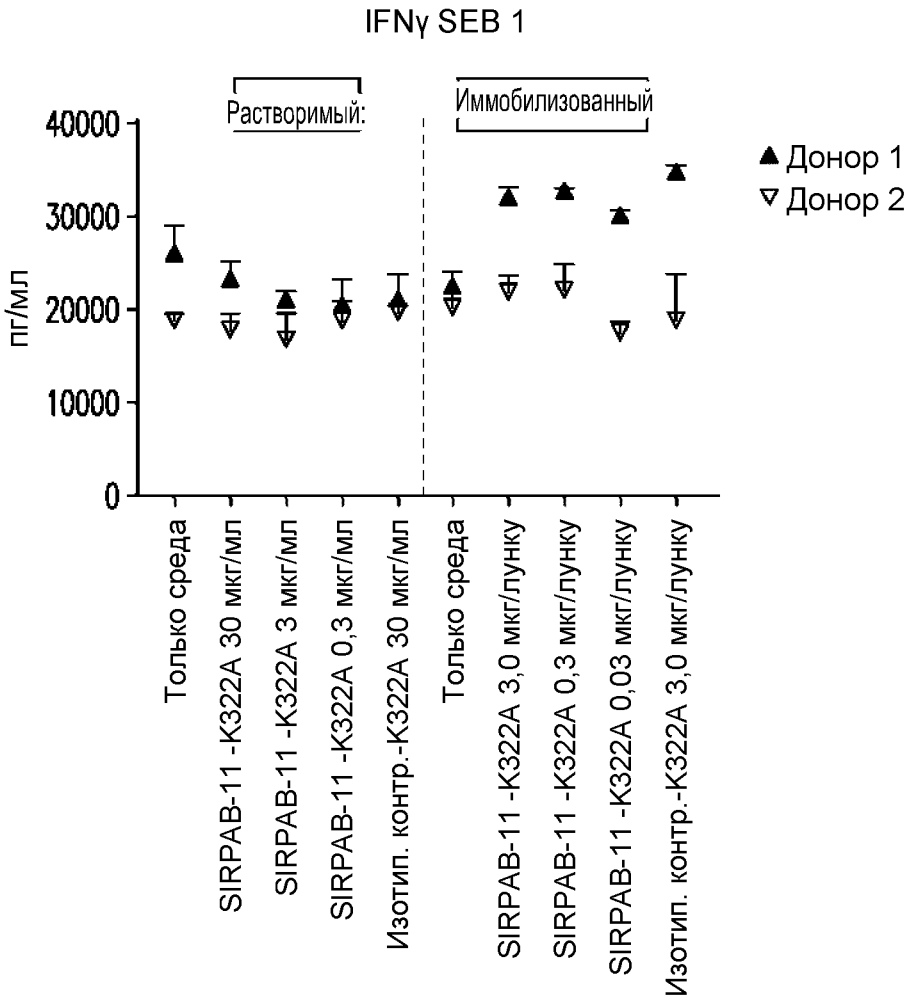
Цитокины	Донор	ГМ-КСФ			IFN-γ			IL—10			IL—12p70			IL-1β		
		Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	
SIRPAB-11 по сравнению с Изотип. контр.-K322A	Водный															
	1	***	< 2	Нет	**	213	Да	***	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	****	< 2	Нет
	2	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет
	Иммобилизованный															
	1	нз	< 2	Нет	**	-6,07	Да	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет
	2	***	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	***	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	**	< 2	Нет

Цитокины	Донор	IL—2			IL—6			IL—8			TNF		
		Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность
SIRPAB-11 по сравнению с K322A изотипического контроля	Водный												
	1	*	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет
	2	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	***	< 2	Нет
	Иммобилизованный												
	1	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет
	2	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет

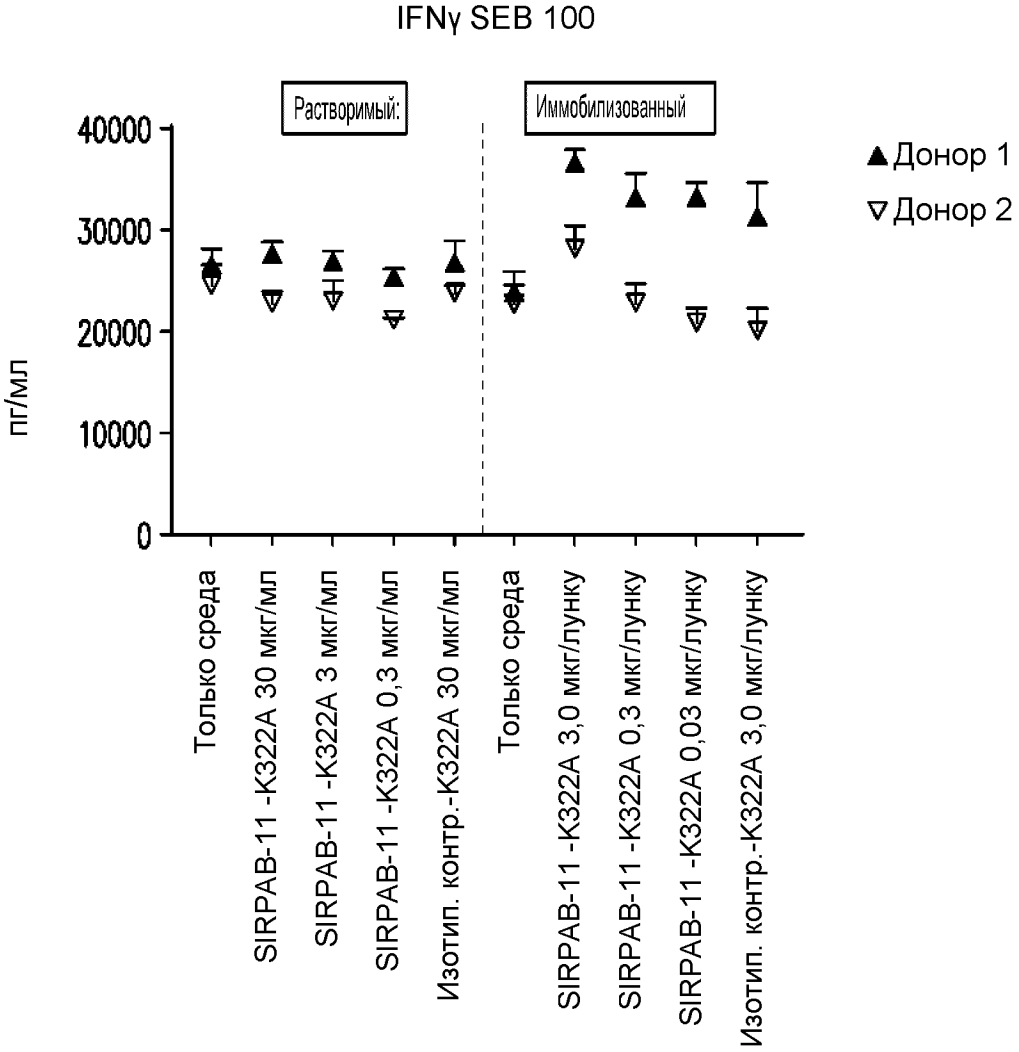
ФИГ. 12C



ФИГ. 12D



ФИГ. 12E


IFNγ SEB 100
Растворимый:
Иммобилизованный
пг/мл
40000
30000
20000
10000
0
Только среда
SIRPAB-11 -K322A 30 мкг/мл
SIRPAB-11 -K322A 3 мкг/мл
SIRPAB-11 -K322A 0,3 мкг/мл
Изотип. контр.-K322A 30 мкг/мл
Только среда
SIRPAB-11 -K322A 3,0 мкг/лунку
SIRPAB-11 -K322A 0,3 мкг/лунку
SIRPAB-11 -K322A 0,03 мкг/лунку
Изотип. контр.-K322A 3,0 мкг/лунку
Донор 1
Донор 2

ФИГ. 12F

Цитокины	Донор	ГМ-КСФ			IFN-γ			IL—10			IL—12p70			IL-1β		
		Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	
SIRPAB-11-K322A по сравнению с изотип. контр.-K322A	Водный															
	1	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет
	2	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет	нз	< 2	Нет
	Иммобилизованный															
	1	нз	< 2	Нет	**	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет	нз	< 2	Нет
	2	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет

Цитокины	Донор	IL—2			IL—6			IL—8			TNF		
		Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность
SIRPAB-11-K322A по сравнению с изотип. контр.-K322A	Водный												
	1	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	нз	< 2	Нет
	2	нз	< 2	Нет	**	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	*	< 2	Нет
	Иммобилизованный												
	1	*	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	нз	< 2	Нет
	2	*	< 2	Нет	**	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	нз	< 2	Нет

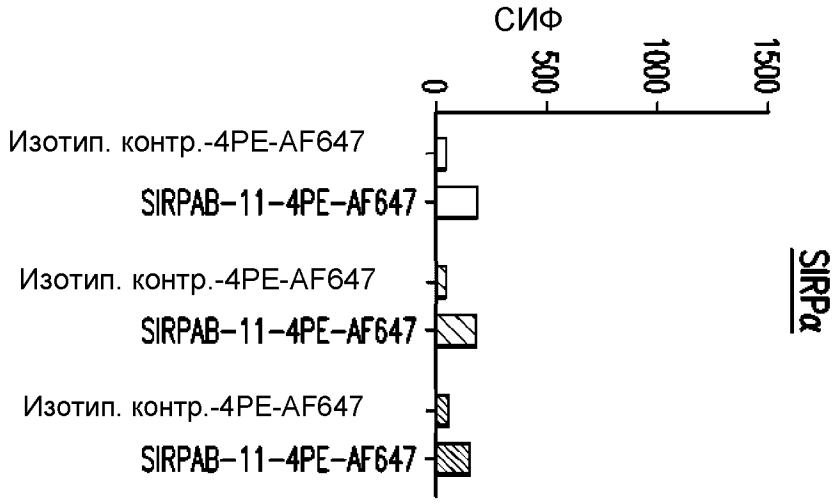
ФИГ. 12G

Цитокины	Донор	ГМ-КСФ			IFN-γ			IL—10			IL—12p70			IL-1β		
		Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	
SIRPAB-11- K322A по сравнению с изотип. контр.- K322A	Водный															
	1	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет
	2	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет
	Иммобилизованный															
	1	*	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет
	2	**	< 2	Нет	**	< 2	Нет	*	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет

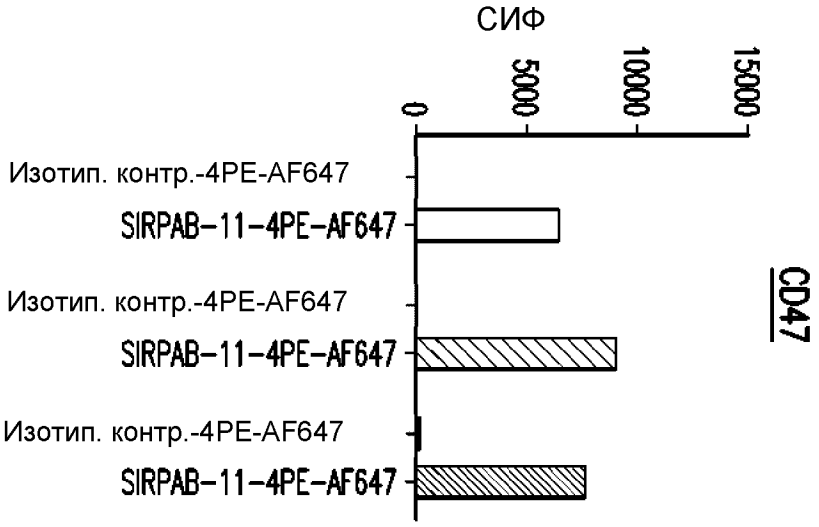
Цитокины	Донор	IL—2			IL—6			IL—8			TNF		
		Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность	Значение P	Макс. кратное значение	достоверность
SIRPAB-11 - K322A по сравнению с изотип. контр. K322A	Водный												
	1	нз	< 2	Нет	*	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	нз	< 2	Нет
	2	**	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	нз	< 2	Нет
	Иммобилизованный												
	1	нз	< 2	Нет	нз	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	нз	< 2	Нет
	2	**	< 2	Нет	*	< 2	Нет	Н/Д	Н/Д	Нет	***	< 2	Нет

ФИГ. 12H

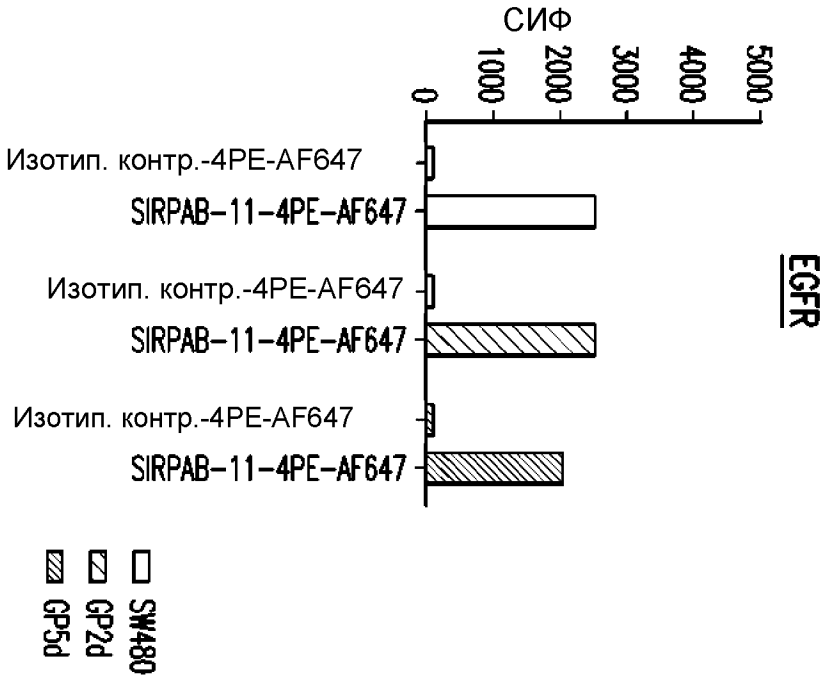
ФИГ. 13A

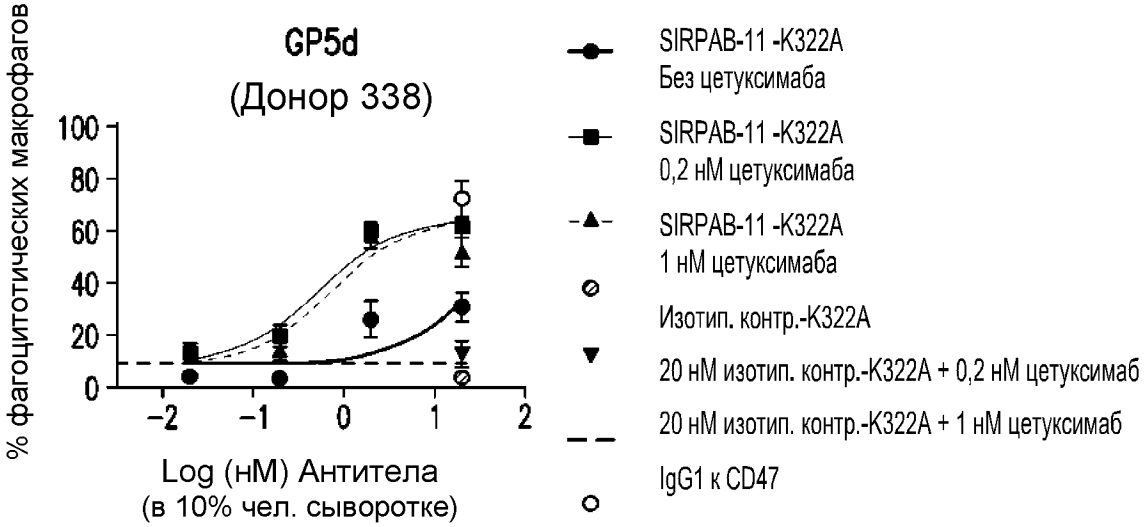


ФИГ. 13B

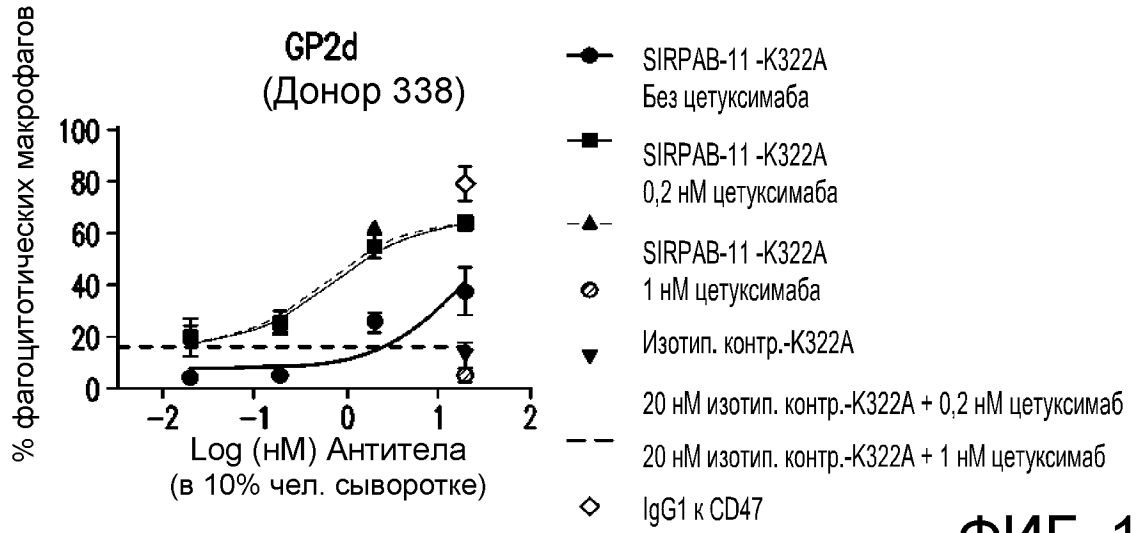


ФИГ. 13C

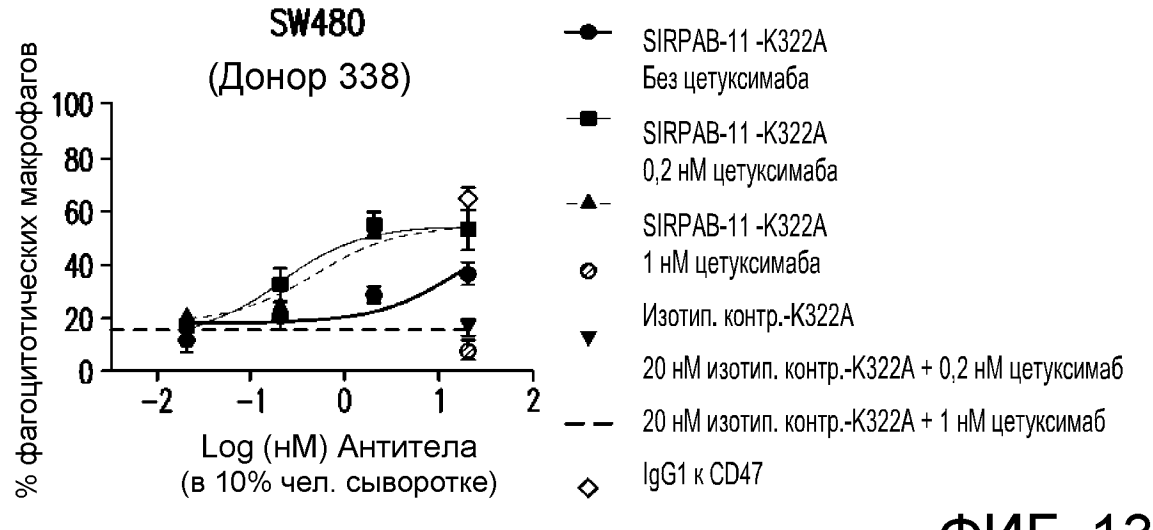




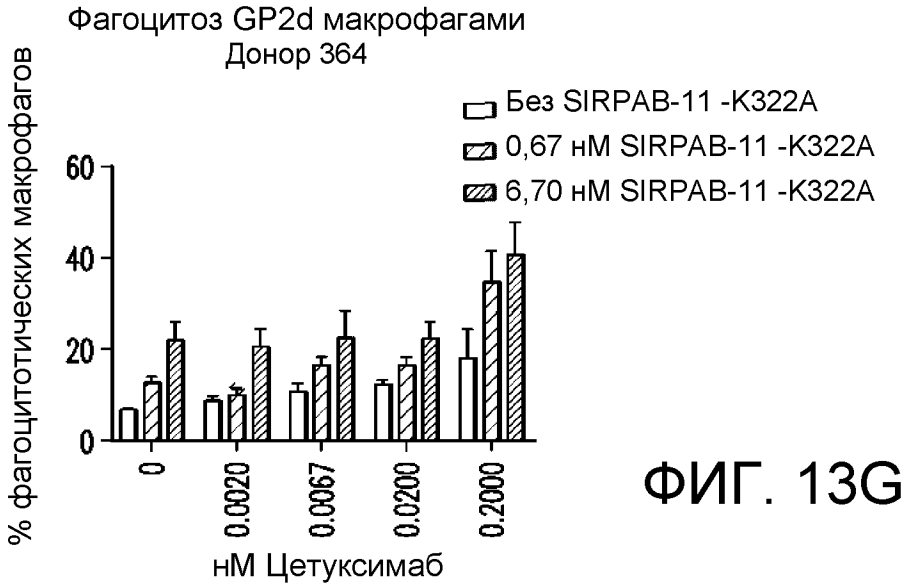
ФИГ. 13D



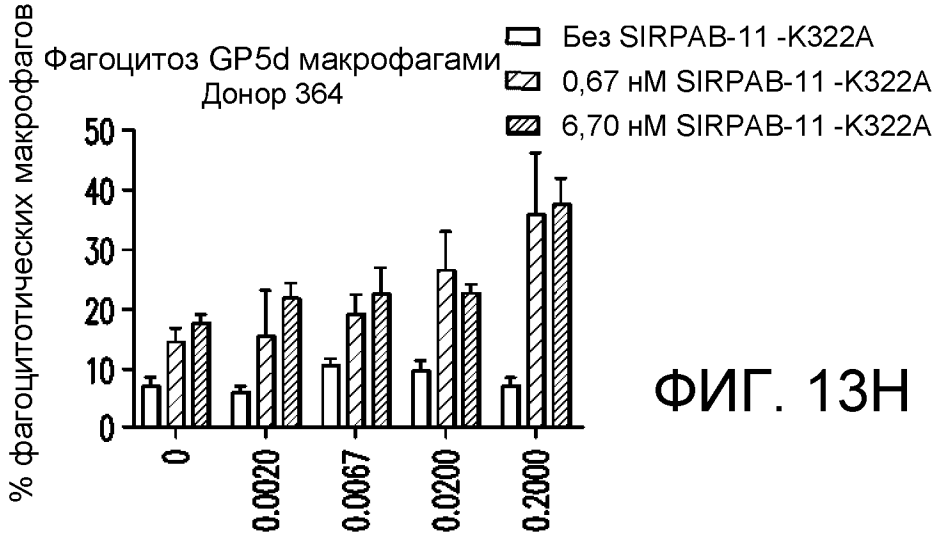
ФИГ. 13E



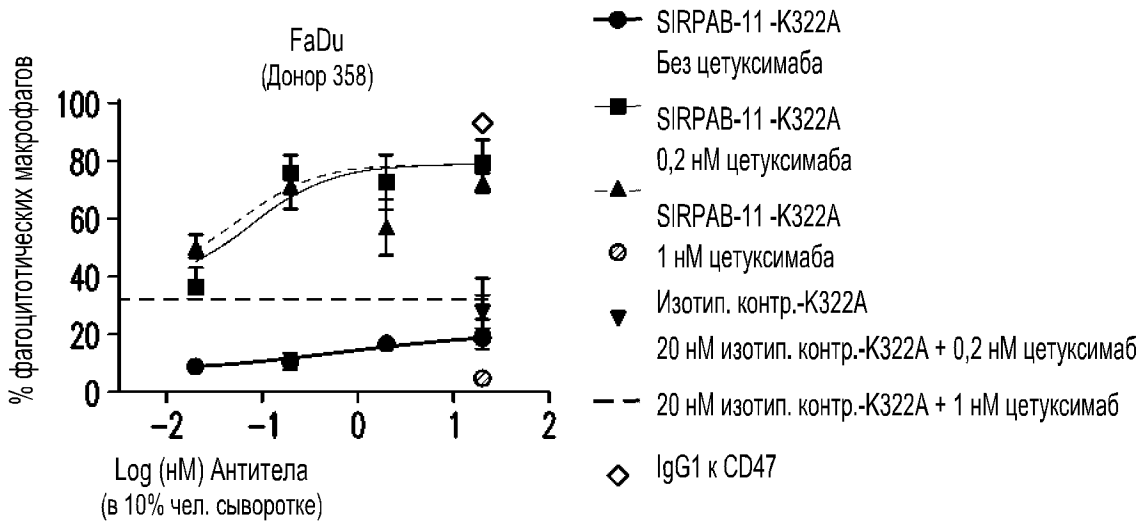
ФИГ. 13F



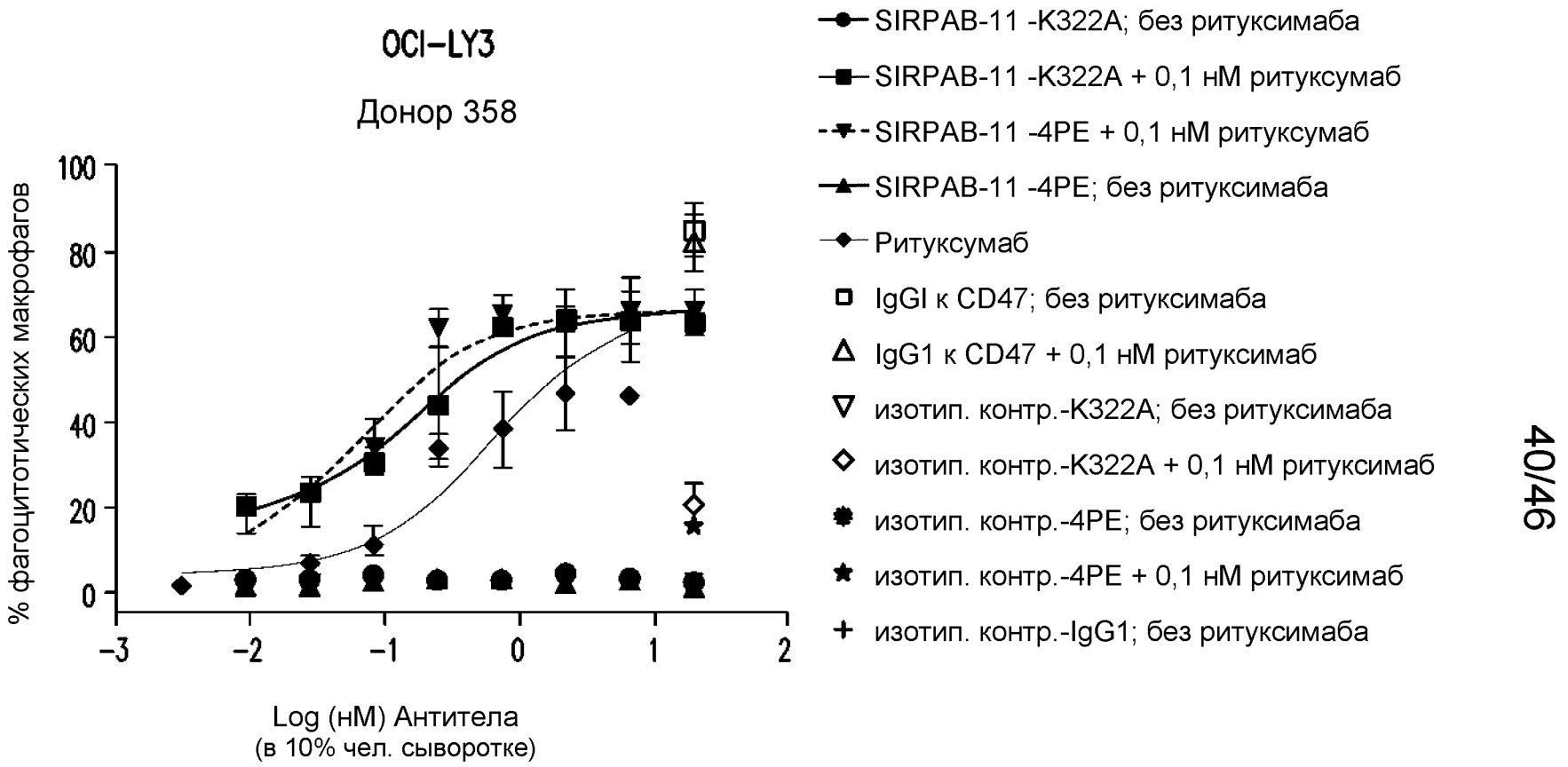
ФИГ. 13G



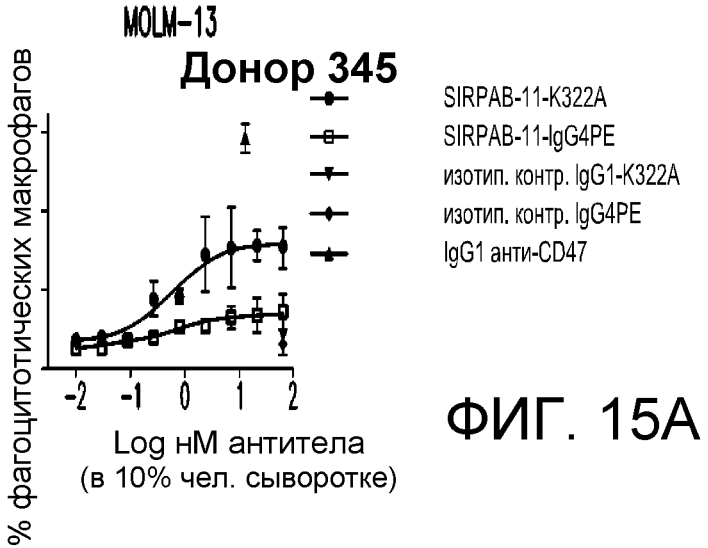
ФИГ. 13H



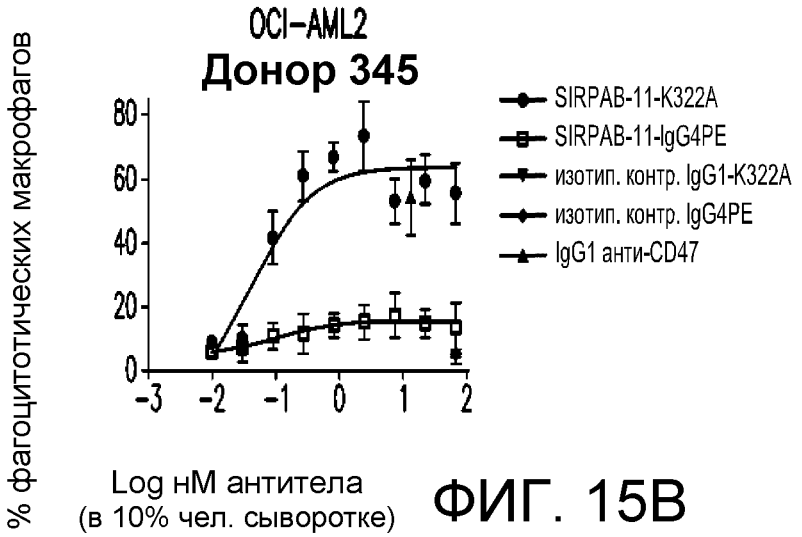
ФИГ. 13I


OCI-LY3
Донор 358
% фагоцитотических макрофагов
100
80
60
40
20
0
-3
-2
-1
0
1
2
Log (нМ) Антитела
(в 10% чел. сыворотке)
SIRPAB-11 -K322A; без ритуксимаба
SIRPAB-11 -K322A + 0,1 нМ ритуксумаб
SIRPAB-11 -4PE + 0,1 нМ ритуксумаб
SIRPAB-11 -4PE; без ритуксимаба
Ритуксумаб
IgGI к CD47; без ритуксимаба
IgG1 к CD47 + 0,1 нМ ритуксимаб
изотип. контр.-K322A; без ритуксимаба
изотип. контр.-K322A + 0,1 нМ ритуксимаб
изотип. контр.-4PE; без ритуксимаба
изотип. контр.-4PE + 0,1 нМ ритуксимаб
изотип. контр.-IgG1; без ритуксимаба

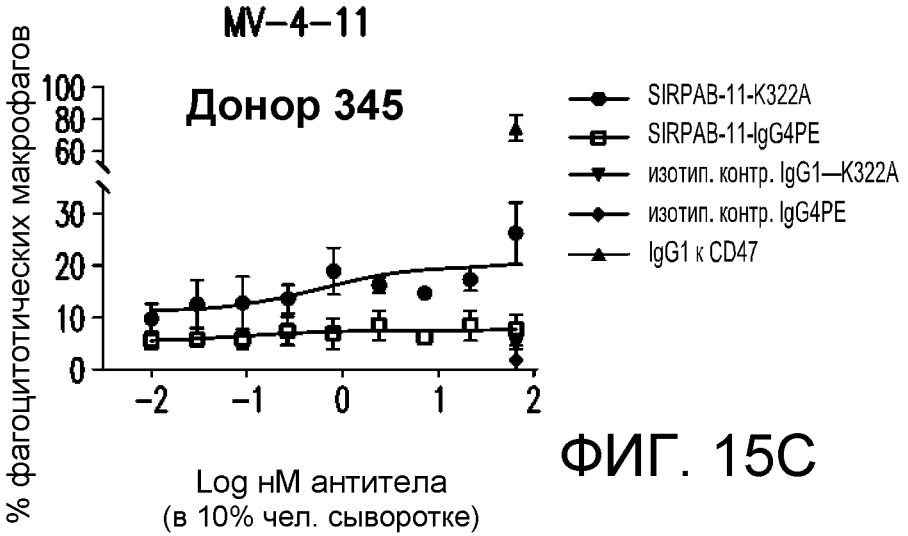
ФИГ. 14



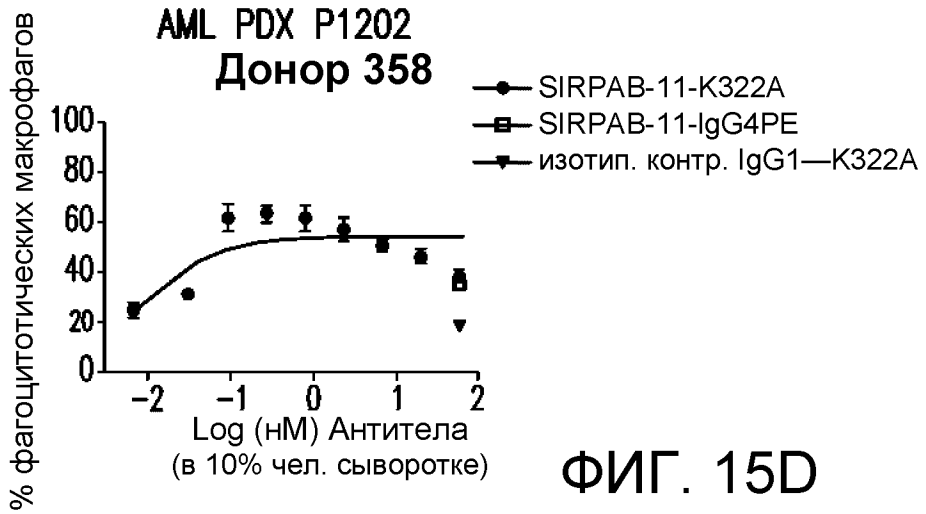
ФИГ. 15A



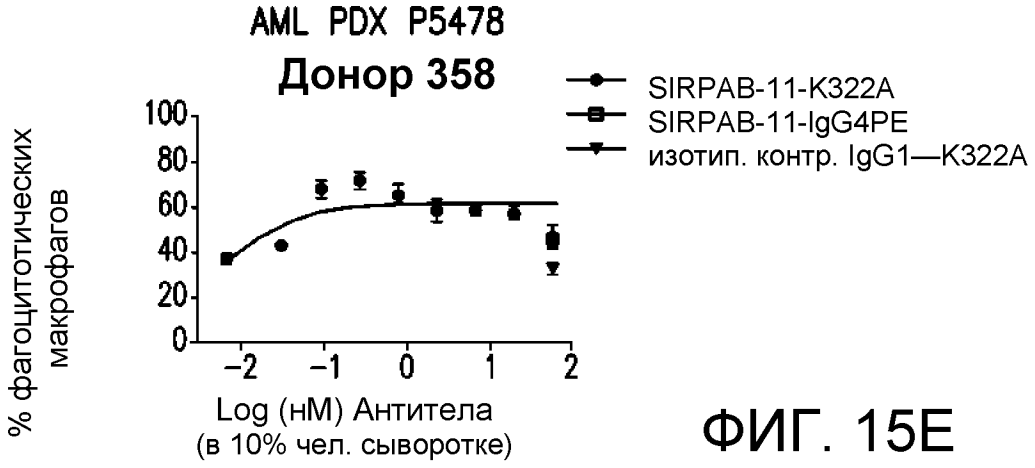
ФИГ. 15B



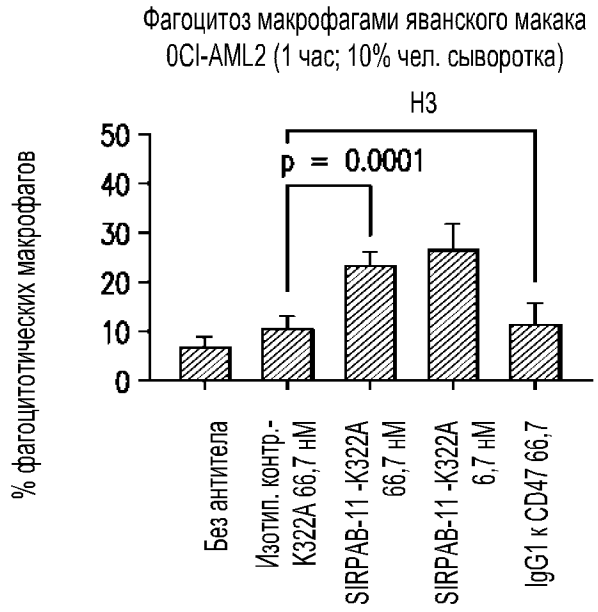
ФИГ. 15C



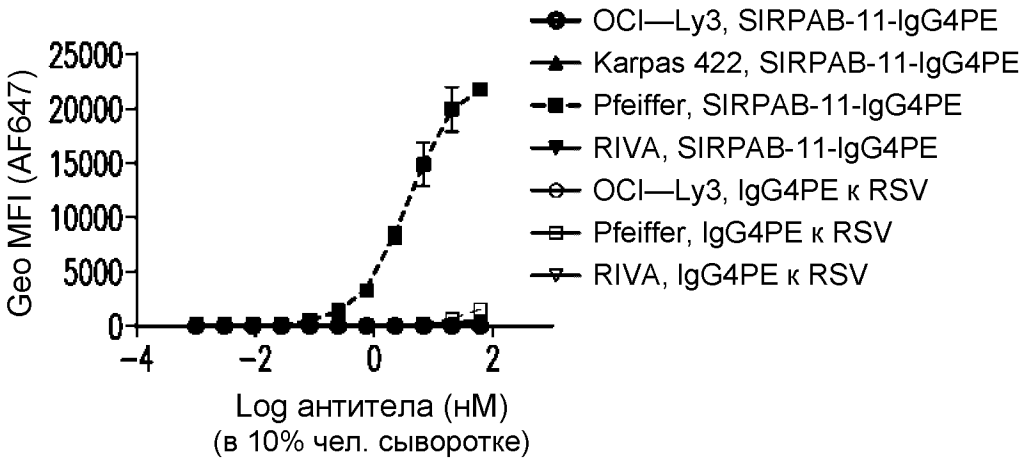
ФИГ. 15D



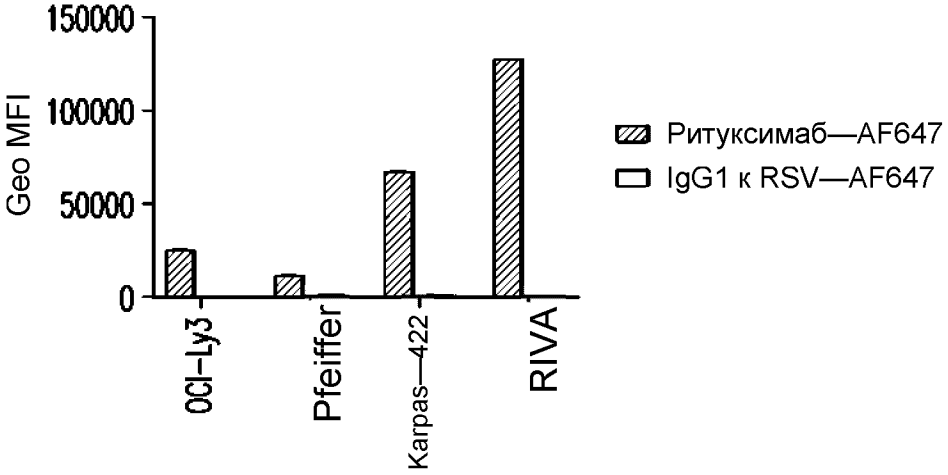
ФИГ. 15E



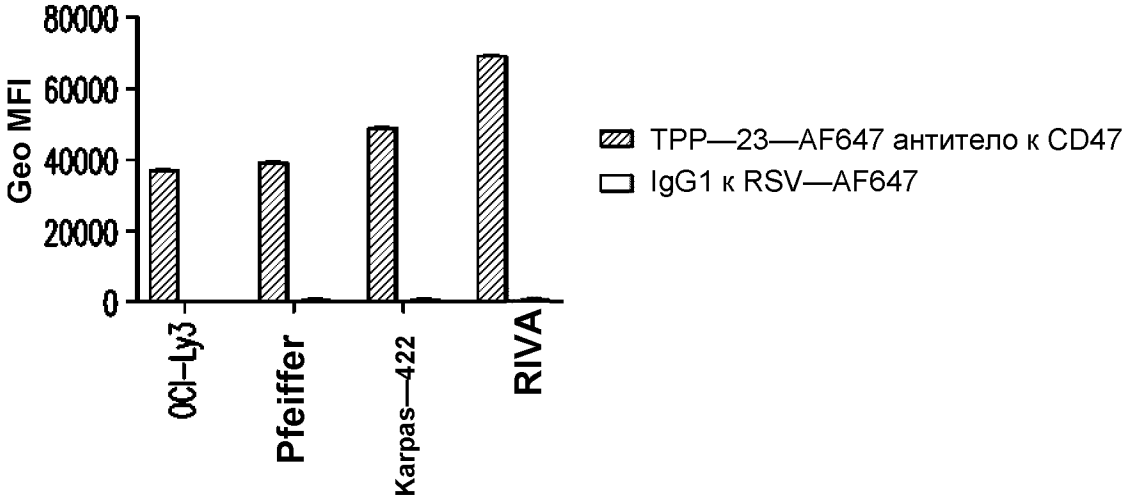
ФИГ. 15F



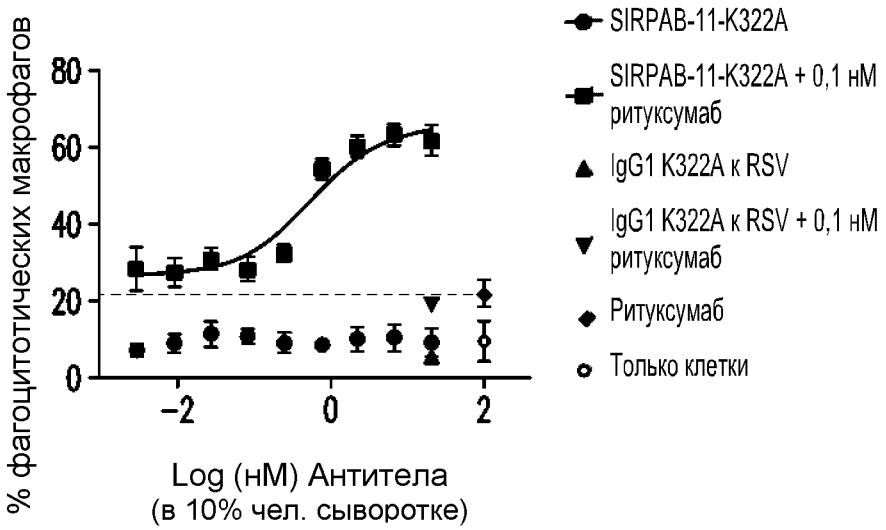
ФИГ. 16A



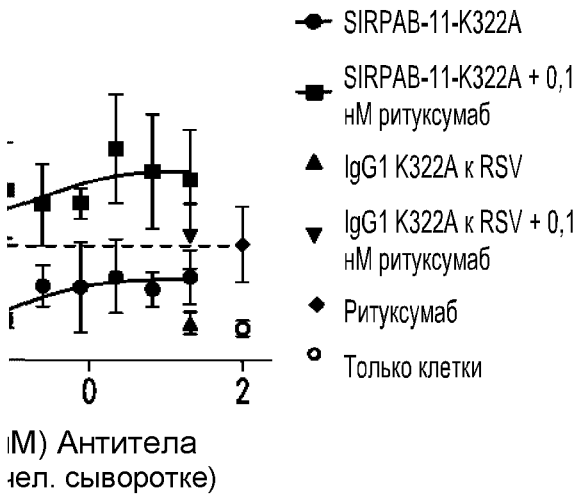
ФИГ. 16B



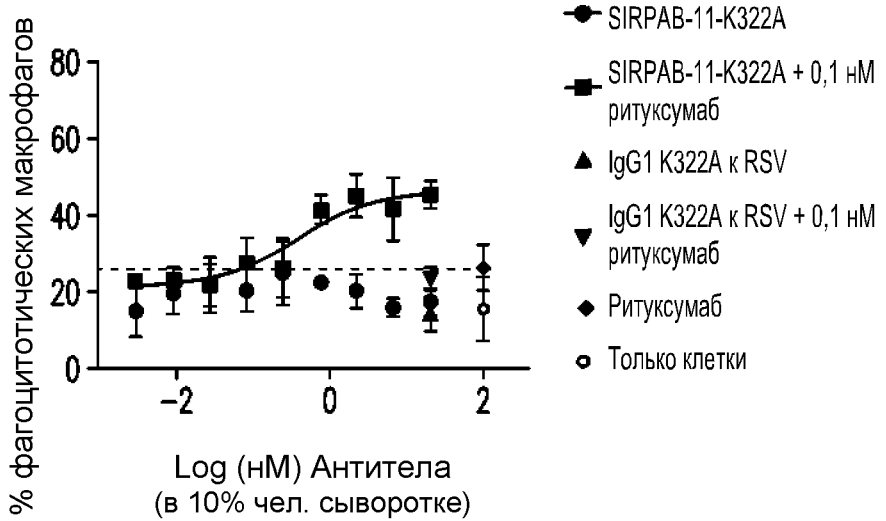
ФИГ. 16C



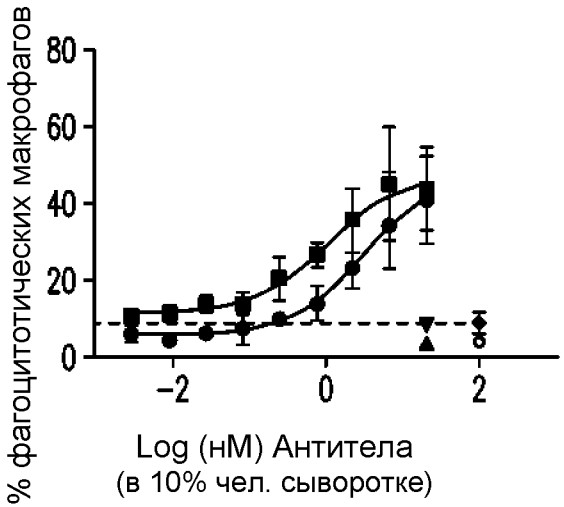
ФИГ. 17A



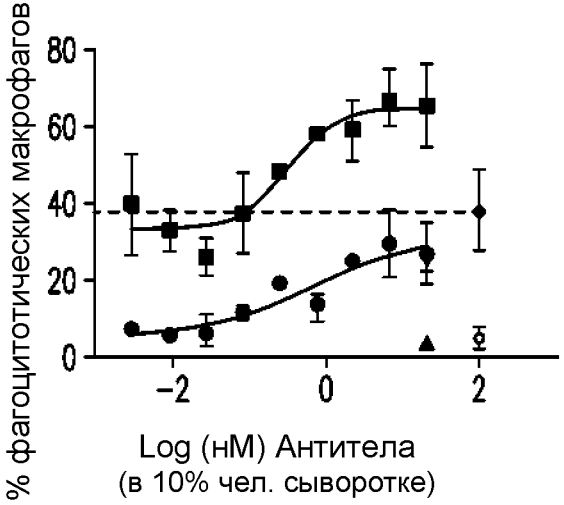
ФИГ. 17B



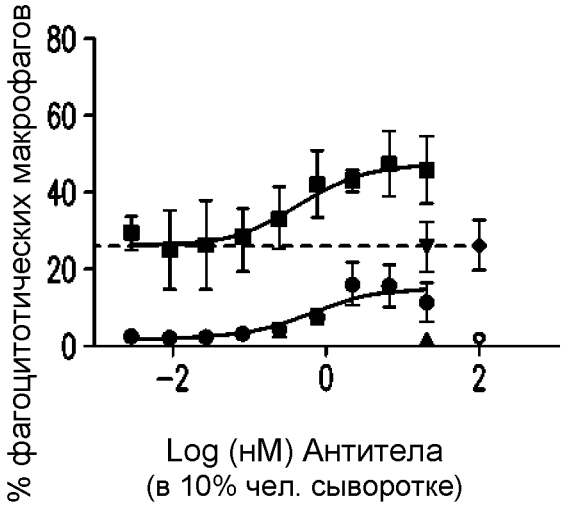
ФИГ. 17C



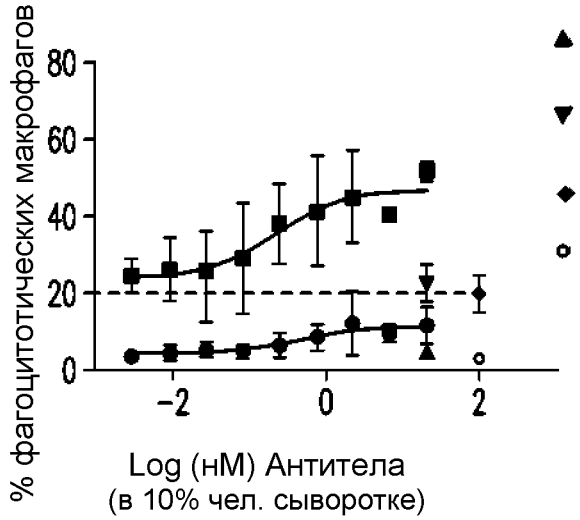
ФИГ. 18A



ФИГ. 18B

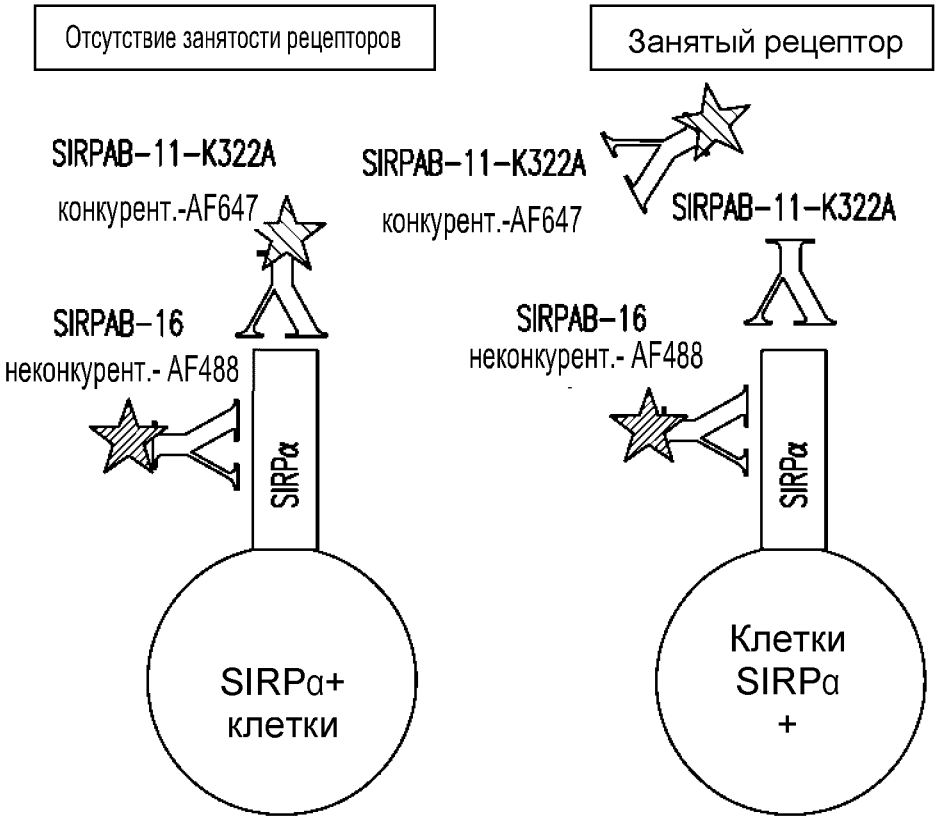


ФИГ. 18C

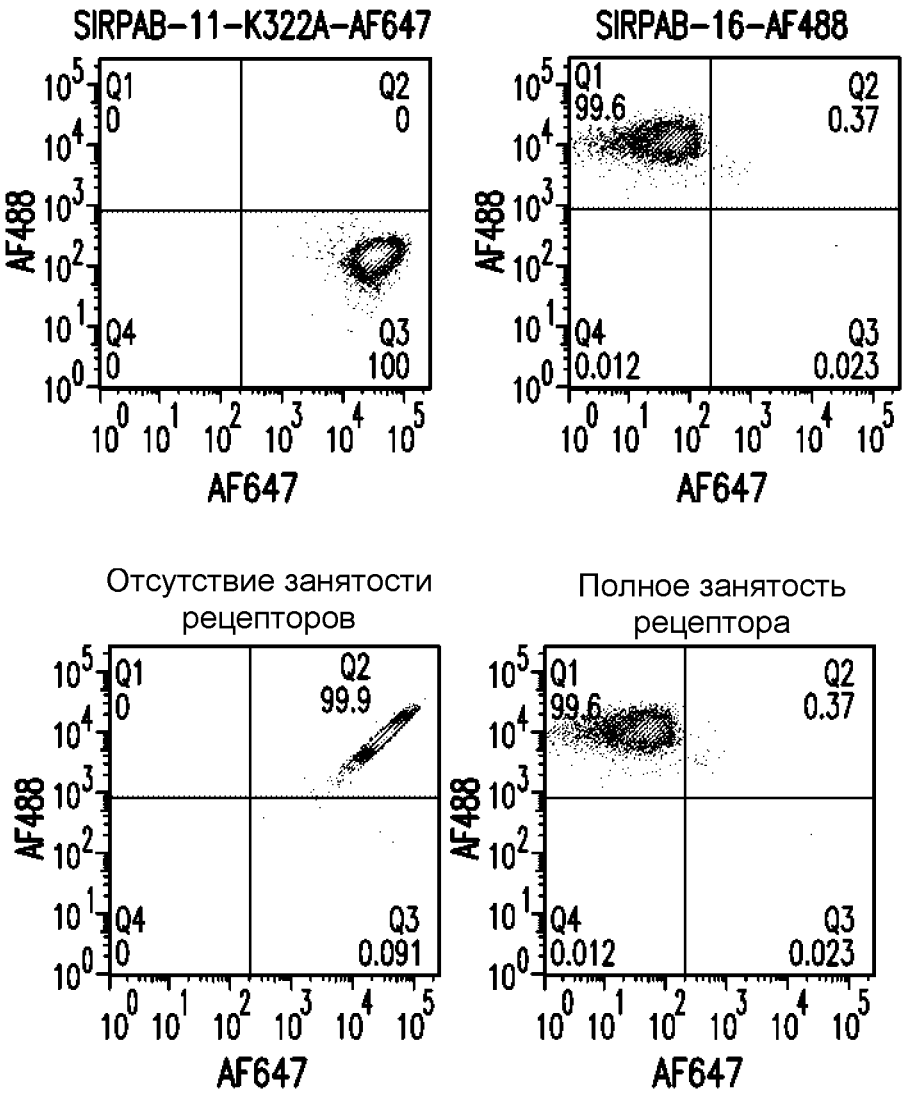


ФИГ. 18D





ФИГ. 19A



ФИГ. 19B