

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **039894**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2022.03.24**

**(21)** Номер заявки  
**201792249**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2016.04.12**

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

---

**(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ РАКА, КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА, ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА, ХАРАКТЕРИЗУЮЩЕГОСЯ ПРИСУТСТВИЕМ МАКРОФАГОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ CSF1R**

---

**(31)** 62/146,766; 62/190,945

**(32)** 2015.04.13; 2015.07.10

**(33)** US

**(43)** 2018.06.29

**(86)** PCT/US2016/027038

**(87)** WO 2016/168149 2016.10.20

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ФАЙВ ПРАЙМ ТЕРАПЬЮТИКС,  
ИНК. (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Мастеллер Эмма, Бреннан Томас,  
Белловин Дэвид, Бейкер Кевин, Вонг  
Брайан (US)**

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

**(56)** WO-A1-2013132044

Y. ZHU ET AL.: "CSF1/CSF1R Blockade Reprograms Tumor-Infiltrating Macrophages and Improves Response to T-cell Checkpoint Immunotherapy in Pancreatic Cancer Models", *CANCER RESEARCH*, vol. 74, no. 18, 31 July 2014 (2014-07-31), pages 5057-5069, XP055242334, US ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3723, page 5066, right-hand column; figure 7

WO-A1-2014036357

---

**(57)** Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у субъекта, где рак характеризуется присутствием макрофагов, экспрессирующих CSF1R, включающему введение субъекту антитела против CSF1R и по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. Изобретение также относится к композиции для лечения рака, характеризующегося присутствием макрофагов, экспрессирующих CSF1R, содержащей антитело против CSF1R и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство, и к применению композиции для получения лекарственного средства для лечения рака, характеризующегося присутствием макрофагов, экспрессирующих CSF1R.

---

**B1**

**039894**

**039894**

**B1**

### **Перекрестная ссылка на родственные заявки**

По настоящей заявке испрашивается приоритет временной заявке США № 62/146766, поданной 13 апреля 2015 года; и временной заявке США № 62/190945, поданной 10 июля 2015 года, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме для любой цели.

### **Область техники**

Способы лечения злокачественной опухоли антителами, которые связывают рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R), в комбинации с одним или несколькими иммуностимулирующими средствами.

### **Уровень техники**

Рецептор колониестимулирующего фактора 1 (обозначаемый в настоящем описании как CSF1R; также обозначаемый в данной области как рецептор FMS, рецептор FIM2, рецептор C-FMS, рецептор M-CSF и CD115) представляет собой однократно проходящий через мембрану рецептор с N-концевым внеклеточным доменом (ECD) и C-концевым внутриклеточным доменом с тирозинкиназной активностью. Связывание лиганда CSF1 или лиганда интерлейкина 34 (обозначаемого в настоящем описании как IL-34; Lin et al., Science 320: 807-11 (2008)) с CSF1R приводит к димеризации рецептора, активации тирозинкиназной активности белка CSF1R, фосфорилированию остатков тирозина CSF1R и последующим событиям передачи сигнала. Активация CSF1R посредством CSF1 или IL-34 приводит к транспорту, выживанию, пролиферации и дифференцировке моноцитов и макрофагов, а также других ростков моноцитарных клеток, таких как остеокласты, дендритные клетки и микроглия.

Было обнаружено, что многие опухолевые клетки или стромальные клетки опухоли продуцируют CSF1, который активирует моноциты/макрофаги через CSF1R. Было показано, что уровень CSF1 в опухолях коррелирует с уровнем опухолеассоциированных макрофагов (TAM) в опухоли. Было обнаружено, что более высокие уровни TAM коррелируют с худшими прогнозами для пациентов при большинстве злокачественных опухолей. Кроме того, было обнаружено, что CSF1 стимулирует рост опухоли и прогрессирование в метастазы, например, в ксенотрансплантатах рака молочной железы человека у мышей. См., например, Paulus et al., Cancer Res. 66: 4349-56 (2006). Кроме того, CSF1R играет роль в остеолитическом разрушении костей при метастазировании в кости. См., например, Ohno et al., Mol. Cancer Ther. 5: 2634-43 (2006). TAM стимулируют рост опухоли, частично посредством подавления противоопухолевой функции эффекторных Т-клеток через высвобождение иммунодепрессивных цитокинов и экспрессию ингибирующих Т-клетки поверхностных белков. Таким образом, антитела, которые связываются с CSF1R, могут быть пригодными в способах лечения злокачественной опухоли.

Некоторые опухолевые клетки могут ускользать от обнаружения иммунной системой, по меньшей мере частично, посредством подавления иммунного ответа, например посредством изменения экспрессии иммуномодулирующих генов. Например, относительные концентрации как иммуностимулирующих, так и иммунных ингибиторных молекул в организме могут модулировать адаптивный иммунный ответ. Относительно высокий уровень экспрессии ингибиторных молекул и/или сниженная экспрессия определенных стимулирующих молекул может создавать точку контроля или переключатель, который подавляет адаптивный иммунный ответ. Средства, которые противодействуют этому эффекту путем активации адаптивного иммунного ответа или посредством стимуляции врожденного иммунного ответа, являются потенциальными средствами для лечения злокачественной опухоли.

Комбинированный режим из средств, которые модулируют иммунный ответ при злокачественной опухоли, таких как иммуностимулирующие средства, может повышать глубину и длительность ответа, а также может расширять эффективность для пациентов, которые не отвечают на единичное средство отдельно.

### **Сущность изобретения**

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения злокачественной опухоли у индивидуума, включающие введение индивидууму антитела против CSF1R и по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, в то время как в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист иммунной ингибиторной молекулы, включая коингибиторную молекулу. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, встречающейся на иммунных клетках, таких как Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист иммунной ингибиторной молекулы, включая коингибиторную молекулу, встречающейся на иммунных клетках, таких как Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, встречающейся на клетках, вовлеченных во врожденный иммунитет, таких как NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист иммунной ингибиторной молекулы, включая коингибиторную молекулу, встречающейся на клетках, вовлеченных во врожденный иммунитет, таких как NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления комби-

нация усиливает ответ антигенспецифических Т-клеток у подвергаемого лечению индивидуума и/или усиливает врожденный иммунный ответ у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления комбинация приводит к усиленному противоопухолевому ответу в моделях злокачественной опухоли на животных, такой как модель с ксенотрансплантатом, по сравнению с введением либо антитела против CSF1R, либо иммуностимулирующего средства, отдельно. В некоторых вариантах осуществления комбинация приводит к синергичному ответу в модели злокачественной опухоли на животных, такой как модель с ксенотрансплантатом, по сравнению с введением либо антитела против CSF1R, либо иммуностимулирующего средства, отдельно.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист ингибитора активации Т-клеток, в то время как в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист стимулятора активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист CTLA4, LAG-3, галектина 1, галектина 9, CEACAM-1, BTLA, CD25, CD69, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM1, TIM3, TIM4, ILT4, IL-6, IL-10, TGF $\beta$ , VEGF, KIR, LAG-3, рецептора аденозина A2A, PI3K-дельта или IDO. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFN $\alpha$ , STING или агонист Toll-подобного рецептора, такой как агонист TLR2/4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с представителем семейства B7 мембраносвязанных белков, таким как B7-1, B7-2, B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с представителем семейства рецепторов TNF или костимулирующей или коингибиторной молекулой, связывающейся с представителем семейства рецептора TNF, таким как CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LT $\beta$ R, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGT/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNF $\beta$ , TNFR2, TNF $\alpha$ , 1 $\beta$ 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY или NGF $\beta$ . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое является антагонистом или ингибитором активации Т-клеток, такое как IL-6, IL-10, TGF $\beta$ , VEGF. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист хемокина, такого как CXCR2, CXCR4, CCR2 или CCR4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист цитокина, который стимулирует активацию Т-клеток, такого как IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и IFN $\alpha$ . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антитело. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство может включать вакцину, такую как нацеленная на мезотелин вакцина или вакцина против злокачественной опухоли на основе ослабленных листерий, такая как CRS-207. Любые один или несколько из описанных выше антагонистов, агонистов и связывающих соединений можно комбинировать с любыми одним или несколькими из антител против CSF1R, описанных в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист CD40, необязательно в комбинации с по меньшей мере одним другим иммуностимулирующим средством, как указано выше. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой антитело против CD40. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD40 содержит CDR антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузамаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD40 содержит переменные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузамаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD40 представляет собой антитело, выбранное из CP-870.893; дацетузамаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой рекомбинантный CD40L. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист CD40 и по меньшей мере одно дополнительное иммуностимулирующее средство из тех, что описаны выше. Например, любое одно или несколько из описанных выше иммуностимулирующих средств можно комбинировать с любыми одним или несколькими антителами против CSF1R, а также с агонистом CD40, таким как антитело-агонист CD40 или рекомбинантный CD40L, такие как любое из антител против CD40, описанных выше.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство вводят одновременно или последовательно. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько доз по меньшей мере одного им-

муностимулирующего средства вводят до введения антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления индивидууму проводят полный курс терапии по меньшей мере одним иммуностимулирующим средством перед введением антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в ходе второго курса терапии по меньшей мере одним иммуностимулирующим средством. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре дозы по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства перед введением антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну дозу по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства вводят одновременно с ингибитором CSF1R. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против CSF1R вводят перед введением по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят по меньшей мере две, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре дозы антитела против CSF1R перед введением по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну дозу антитела против CSF1R вводят одновременно по меньшей мере с одним иммуностимулирующим средством.

В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль выбрана из немелкоклеточного рака легкого, меланомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака яичника, рака поджелудочной железы, почечноклеточного рака, печеночно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, лимфомы Ходжкина, рака легкого, глиомы, мультиформной глиобластомы, рака толстого кишечника, рака молочной железы, рака кости, рака кожи, рака матки, гастрального рака, рака желудка, лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, множественной миеломы, рака предстательной железы, мезотелиомы и рака почки. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль является рецидивирующей или прогрессирующей после терапии, выбранной из хирургической операции, химиотерапии, лучевой терапии или их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются композиции, содержащие антитело против CSF1R и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист ингибитора активации Т-клеток, в то время как в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист стимулятора активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист CTLA4, LAG-3, галектина 1, галектина 9, CEACAM-1, BTLA, CD25, CD69, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM1, TIM3, TIM4, ILT4, IL-6, IL-10, TGF $\beta$ , VEGF, KIR, LAG-3, рецептора аденозина A2A, PI3K-дельта или IDO. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFN $\alpha$ , STING или агонист Toll-подобного рецептора, такой как агонист TLR2/4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с представителем семейства B7 мембраносвязанных белков, таким как B7-1, B7-2, B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с представителем семейства рецепторов TNF или костимулирующей или коингибиторной молекулой, связывающейся с представителем семейства рецепторов TNF, таким как CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LT $\beta$ R, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGL/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNF $\beta$ , TNFR2, TNF $\alpha$ , 1 $\beta$ 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY или NGF $\beta$ . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое является антагонистом или ингибитором цитокина, который ингибирует активацию Т-клеток, такого как IL-6, IL-10, TGF $\beta$ , VEGF. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист цитокина, который стимулирует активацию Т-клеток, такого как IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и IFN $\alpha$ . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист хемокина, такого как CXCR2, CXCR4, CCR2 или CCR4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антитело. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство может включать вакцину, такую как нацеленная на мезотелин вакцина или вакцина против злокачественной опухоли на основе ослабленных листерий, такая как CRS-207.

В некоторых вариантах осуществления композиции содержат любые один или несколько из описанных выше антагонистов, агонистов и связывающихся соединений в комбинации с любыми одним или несколькими из антител против CSF1R, описанными в настоящем описании. Композиции могут включать каждое лекарственное средство в отдельном контейнере или отделении или альтернативно могут включать два или более лекарственных средств, смешанных вместе.

В некоторых вариантах осуществления композиции содержат антитело против CSF1R и агонист CD40, необязательно вместе по меньшей мере с одним другим иммуностимулирующим средством, как указано выше. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой антитело против CD40. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD40 содержит CDR антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузумаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD40 содержит переменные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузумаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD40 представляет собой антитело, выбранное из CP-870.893; дацетузумаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой рекомбинантный CD40L. В некоторых вариантах осуществления композиции содержат любое одно или несколько из описанных выше иммуностимулирующих средств в комбинации как с любым из одного или нескольких антител против CSF1R, описанных в настоящем описании, так и с агонистом CD40, таким как антитело-агонист CD40 или рекомбинантный CD40L, такие как любое из антител против CD40, описанных выше. Композиции могут включать каждое лекарственное средство в отдельном контейнере или отделении или альтернативно могут включать два или более лекарственных средств, смешанных вместе.

В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, тяжелая цепь и/или легкая цепь антитела против CSF1R может иметь структуру, описанную ниже.

В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, тяжелая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45. В любом из способов, описанных в настоящем описании, легкая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, тяжелая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, и легкая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

В любых из композиций и способов, описанных в настоящем описании, CDR1 HC, CDR2 HC и CDR3 HC антитела против CSF1R могут содержать набор последовательностей, выбранных из (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, CDR1 LC, CDR2 LC и CDR3 LC антитела CSF1R могут содержать набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, тяжелая цепь антитела против CSF1R может CDR1 HC, CDR2 HC и CDR3 HC, где CDR1 HC, CDR2 HC и CDR3 HC содержат набор последовательностей, выбранных из (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29; и легкая цепь может содержать CDR1 LC, CDR2 LC и CDR3 LC, где CDR1 LC, CDR2 LC и CDR3 LC содержат набор последовательностей, выбранных из (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может содержать (a) тяжелую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 10; (b) тяжелую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 12; (c) тяжелую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 14; (d) тяжелую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 39, и легкую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 46; (e) тяжелую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 40, и легкую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 46; (f) тяжелую цепь, содержащую последовательность, которая по меньшей мере



В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может содержать (а) тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где антитело содержит (а) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 65.

В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может представлять собой гуманизованное антитело. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может быть выбрано из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')<sub>2</sub>. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может представлять собой химерное антитело. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может быть выбрано из IgA, IgG и IgD. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может представлять собой IgG. В любых из способов, описанных в настоящем описании, антитело может представлять собой IgG1 или IgG2.

В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может связываться с CSF1R человека и/или может связываться с CSF1R яванского макака. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может блокировать связывание лиганда с CSF1R. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может блокировать связывание CSF1 и/или IL-34 с CSF1R. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может блокировать связывание как CSF1, так и IL-34, с CSF1R. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может ингибировать индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может ингибировать индуцируемое CSF1 и/или IL-34 фосфорилирование CSF1R. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может связываться с CSF1R человека с аффинностью ( $K_D$ ) менее 1 нМ. В любых из композиций или способов, описанных в настоящем описании, антитело против CSF1R может ингибировать ответы пролиферации и/или выживания моноцитов в присутствии CSF1 или IL-34.

#### **Краткое описание чертежей**

На фиг. 1A-C показано выравнивание гуманизованных переменных областей тяжелой цепи для каждого из гуманизованных антител huAb1-huAb16, как описано в примере 1. Заключенные в рамку остатки представляют собой аминокислоты в акцепторной последовательности человека, которые были заменены обратно на соответствующие остатки мыши.

На фиг. 2A-C показано выравнивание гуманизованных переменных областей легкой цепи для каждого из гуманизованных антител huAb1-huAb16, как рассмотрено в примере 1. Заключенные в рамку аминокислоты представляют собой остатки в акцепторной последовательности человека, которые были заменены обратно на соответствующий остаток мыши.

На фиг. 3 показано, что комбинация антитела против CSF1R и антитела против CD40 демонстрирует более высокое подавление роста опухоли в модели опухоли MC38 на мышах, чем любой из этих способов терапии отдельно.

На фиг. 4A, B показан объем опухоли у индивидуальных мышей (фиг. 4A) на 11 сутки и (фиг. 4B) на 13 сутки. Комбинация антитела против CSF1R и антитела против CD40 имела значительно более высокую эффективность, чем любой из этих способов терапии отдельно в оба момента времени.

На фиг. 5 показана масса тела мышей, использованных в исследовании.

#### **Подробное описание**

Опухольассоциированные макрофаги (TAM) вовлечены в патогенез многих злокачественных опухолей, и они коррелируют с плохим прогнозом. TAM могут подавлять противоопухолевые ответы посредством множества механизмов. TAM экспрессируют противовоспалительные цитокины, такие как TGF $\beta$  и IL-10, которые действуют, подавляя способность внутриопухолевых дендритных клеток стимулировать ответы цитотоксических Т-клеток (Ruffell et al., 2014, Cancer Cell). TAM также экспрессируют хемокины, которые привлекают иммунодепрессивные регуляторные Т-клетки в опухоли (Curiel et al., 2004, Nature Med.; Mizukami et al., 2008, Int. J. Cancer). Более того, TAM экспрессируют лиганды для ингибирующих Т-клетки рецепторов PD-1 и CTLA-4, которые действуют, прямо ингибируя активацию и функционирование Т-клеток. Ингибирование CSF1R может снижать уровень иммунодепрессивных TAM в моделях на мышах и в опухолях человека. См., например, Ries et al., 2014, Cancer Cell, 25: 846-859; Puy-ontech et al., 2013, Nature Med., 19: 1264-1272; и Zhu et al., 2014, Cancer Res., 74: 5057-5069. В противоположность блокаде CSF1R, которая действует, снижая иммуносупрессию, иммуностимулирующие сред-

ства действуют путем стимуляции иммунного ответа.

Заголовки разделов, используемые в настоящем описании, предназначены только для организационных целей, и их не следует истолковывать как ограничивающие описанное изобретение.

#### Определения

Если не определено иначе, научные и технические термины, используемые применительно к настоящему изобретению, имеют значения, которые обычно понятны специалистам в данной области. Кроме того, если контекстом не требуется иное, термины в единственном числе включают множественное число и термины в множественном числе включают единственное число.

Иллюстративные способы, используемые применительно к рекомбинантным ДНК, синтезу олигонуклеотидов, культуре тканей и трансформации (например, электропорация, липофекция), ферментативным реакциям и способам очистки известны в данной области. Многие из таких способов и методик описаны, например, в Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), среди прочего. Кроме того, иллюстративные способы химического синтеза, химического анализа, получения, составления и доставки фармацевтических препаратов и лечения пациентов также известны в данной области.

В настоящей заявке использование "или" означает "и/или", если нет иных указаний. В контексте пункта формулы изобретения, зависящего от другого зависимого пункта, использование "или", наоборот, относится к более чем одному предшествующему независимому или зависимому пункту формулы изобретения только в качестве альтернативы. Также термины, такие как "элемент" или "компонент", охватывают как элементы и компоненты, содержащие одну единицу, так и элементы и компоненты, которые содержат более одной субъединицы, если нет иных конкретных указаний.

Как используют в соответствии с настоящим изобретением, следующие термины, если нет иных указаний, следует понимать как имеющие следующие значения.

Термины "молекула нуклеиновой кислоты" и "полинуклеотид" могут использоваться взаимозаменяемо, и они относятся к полимеру из нуклеотидов. Такие полимеры из нуклеотидов могут содержать природные и/или неприродные нуклеотиды и включают, но не ограничиваются ими, ДНК, РНК и ПНК. "Последовательность нуклеиновой кислоты" относится к линейной последовательности из нуклеотидов, которая содержит молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

Термины "полипептид" и "белок" используют взаимозаменяемо, и они относятся к полимеру из аминокислотных остатков и не ограничиваются минимальной длиной. Такие полимеры из аминокислотных остатков могут содержать природные или неприродные остатки и включают, но не ограничиваются ими, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры аминокислотных остатков. Определение охватывает как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Также термины включают постэкспрессионные модификации полипептида, например гликозилирование, сиамирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. Более того, для целей настоящего изобретения "полипептид" относится к белку, который включает модификации, такие как делеции, вставки и замены (как правило, консервативной природы), в нативной последовательности при условии, что белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, через сайт-направленный мутагенез, или могут быть случайными, например, вследствие мутации хозяев, которые продуцируют белки, или ошибок при амплификации с использованием ПЦР.

Термин "CSF1R" относится в настоящем описании к полноразмерному CSF1R, который включает N-концевой ECD, трансмембранный домен и внутриклеточный тирозинкиназный домен, с N-концевой лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления CSF1R представляет собой CSF1R человека, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

Термин "иммуностимулирующее средство", как используют в рамках изобретения, относится к молекуле, которая стимулирует иммунную систему, либо действуя в качестве агониста иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, либо действуя в качестве антагониста иммунной ингибиторной молекулы, включая коингибиторную молекулу. Иммуностимулирующее средство может представлять собой биологический агент, такой как антитело или фрагмент антитела, другой белок или вакцина, или оно может представлять собой низкомолекулярное лекарственное средство. "Иммуностимулирующая молекула" включает рецептор или лиганд, который действует, усиливая, стимулируя, индуцируя или иным образом "включая" иммунный ответ. Иммуностимулирующие молекулы, как определено в настоящем описании, включают костимулирующие молекулы. "Иммунная ингибиторная молекула" включает рецептор или лиганд, который действует, снижая, ингибируя, подавляя или иным образом "выключая" иммунный ответ. Иммунные ингибиторные молекулы, как определено в настоящем описании, включают коингибиторные молекулы. Такие иммуностимулирующие и иммунные ингибиторные молекулы могут представлять собой, например, рецепторы или лиганды, встречающиеся на иммунных клетках, таких как Т-клетки, или встречающиеся на клетках, вовлеченных во врожденный иммунитет, таких как NK-клетки.

Термины "В-клеточный поверхностный антиген CD40" и "CD40" относятся к полноразмерному CD40, который включает N-концевой ECD, трансмембранный домен и внутриклеточный домен, с N-концевой лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления CD40



представляет собой CD40 человека, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96 (предшественник с сигнальной последовательностью) или SEQ ID NO: 97 (зрелая форма без сигнальной последовательности).

Термин "агонист CD40" относится к части, которая взаимодействует с CD40 и усиливает активность CD40. Неограничивающие иллюстративные виды активности CD40 включают передачу сигнала через CD40, усиление активности представления антигена, индукцию провоспалительных цитокинов и индукцию туморицидной активности. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой антитело против CD40.

Термин "антитело против CD40" относится к антителу, которое специфически связывается с CD40. Если нет иных конкретных указаний, термин "антитело против CD40", как используют в рамках изобретения, относится к антителу-агонисту против CD40.

Что касается антител против CSF1R, термин "блокирует связывание" лиганда, такого как CSF1 и/или IL-34, и его грамматические варианты используют для обозначения способности ингибировать взаимодействие между CSF1R и лигандом CSF1R, таким как CSF1 и/или IL-34. Такое ингибирование может происходить через любой механизм, включая прямое препятствование связыванию лиганда, например, вследствие перекрывания участков связывания на CSF1R и/или конформационных изменений CSF1R, индуцируемых антителом, которое изменяет аффинность лиганда и т.д. Антитела и фрагменты антител, обозначаемые как "функциональные", характеризуются наличием таких свойств.

Термин "антитело", как используют в рамках изобретения, относится к молекуле, содержащей по меньшей мере определяющую комплементарность область (CDR) 1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и по меньшей мере CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, где молекула способна связываться с антигеном. Термин "антитело" включает, но не ограничивается ими, фрагменты, которые способны связывать антиген, такие как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab' и (Fab')<sub>2</sub>. Термин "антитело" включает, но не ограничивается ими, химерные антитела, гуманизированные антитела и антитела различных видов, таких как мышь, человек, яванский макак и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и по меньшей мере одну легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит две тяжелых цепи, где каждая тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и две легких цепи, где легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. Как используют в рамках изобретения, одноцепочечный Fv (scFv) или любое другое антитело, которое содержит, например, одну полипептидную цепь, содержащую все шесть CDR (три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи), считается имеющим тяжелую цепь и легкую цепь. В некоторых таких вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой область антитела, которая содержит три CDR тяжелой цепи, и легкая цепь представляет собой область антитела, которая содержит три CDR легкой цепи.

Термин "вариабельная область тяжелой цепи", как используют в рамках изобретения, относится к области, содержащей CDR1 тяжелой цепи, каркасную область (FR)2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи также содержит по меньшей мере часть FR1 и/или по меньшей мере часть FR4. В некоторых вариантах осуществления CDR1 тяжелой цепи соответствует остаткам 26-35 по Kabat; CDR2 тяжелой цепи соответствует остаткам 50-65 по Kabat; и CDR3 тяжелой цепи соответствует остаткам 95-102 Kabat. См., например, Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 и 1991, NIH, Bethesda, Md.); и фиг. 1. В некоторых вариантах осуществления CDR1 тяжелой цепи соответствует остаткам 31-35 по Kabat; CDR2 тяжелой цепи соответствует остаткам 50-65 по Kabat; и CDR3 тяжелой цепи соответствует остаткам 95-102 по Kabat. См. там же.

Термин "константная область тяжелой цепи", как используют в рамках изобретения, относится к области, содержащей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи: C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 и C<sub>H</sub>3. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\alpha$ . Неограничивающие иллюстративные константной области тяжелой цепи также включают  $\epsilon$  и  $\mu$ . Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотипу антитела. Например, антитело, содержащее константную область  $\gamma$ , представляет собой IgG-антитело, антитело, содержащее константную область  $\delta$ , представляет собой IgD-антитело, и антитело, содержащее константную область  $\alpha$ , представляет собой IgA-антитело. Кроме того, антитело, содержащее константную область  $\mu$ , представляет собой IgM-антитело, и антитело, содержащее константную область  $\epsilon$ , представляет собой IgE-антитело. Определенные изотипы могут быть далее подразделены на подклассы. Например, IgG-антитела включают, но не ограничиваются ими, антитела IgG1 (содержащее константную область  $\gamma_1$ ), IgG2 (содержащее константную область  $\gamma_2$ ), IgG3 (содержащее константную область  $\gamma_3$ ) и IgG4 (содержащее константную область  $\gamma_4$ ); IgA-антитела включают, но не ограничиваются ими, антитела IgA1 (содержащее константную область  $\alpha_1$ ) и IgA2 (содержащее

константную область  $\alpha_2$ ); и IgM-антитела включают, но не ограничиваются ими, IgM1 и IgM2.

В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи содержит одну или несколько мутаций (или замен), вставок или делеций, которые сообщают антителу желаемые характеристики. Неограничивающей иллюстративной мутацией является мутация S241P в шарнирной области IgG4 (между константными доменами C<sub>H</sub>1 и C<sub>H</sub>2), которая изменяет мотив CPSCP IgG4 на CPPCP, который сходен с соответствующим мотивом в IgG1. В некоторых вариантах осуществления эта мутация приводит к более стабильному IgG4-антителу. См., например, Angal et al., *Mol. Immunol.* 30: 105-108 (1993); Bloom et al., *Prot. Sci.* 6: 407-415 (1997); Schuurman et al., *Mol. Immunol.* 38: 1-8 (2001).

Термин "тяжелая цепь", как используют в рамках изобретения, относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере переменную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи. Термин "полноразмерная тяжелая цепь", как используют в рамках изобретения, относится к полипептиду, содержащему переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

Термин "варибельная область легкой цепи", как используют в рамках изобретения, относится к области, содержащей CDR1 легкой цепи, каркасную область (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления варибельная область легкой цепи содержит FR1 и/или FR4. В некоторых вариантах осуществления CDR1 легкой цепи соответствует остаткам 24-34 по Kabat; CDR2 легкой цепи соответствует остаткам 50-56 по Kabat; и CDR3 легкой цепи соответствует остаткам 89-97 по Kabat. См., например, Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (1987 и 1991, NIH, Bethesda, Md.); и фиг. 1.

Термин "константная область легкой цепи", как используют в рамках изобретения, относится к области, содержащей константный домен легкой цепи C<sub>L</sub>. Неограничивающие примеры константной области легкой цепи включают  $\lambda$  и  $\kappa$ .

Термин "легкая цепь", как используют в рамках изобретения, относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере переменную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит по меньшей мере часть константной области легкой цепи. Термин "полноразмерная легкая цепь", как используют в рамках изобретения, относится к полипептиду, содержащему переменную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

"Химерное антитело", как используют в рамках изобретения, относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну переменную область из первого вида (такого как мышь, крыса, яванский макак и т.д.) и по меньшей мере одну константную область из второго вида (такого как человек, яванский макак и т.д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область мыши и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область яванского макака и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область крысы и по меньшей мере одну константную область мыши. В некоторых вариантах осуществления все из переменных областей химерного антитела происходят из первого вида и все из константных областей химерного антитела происходят из второго вида.

"Гуманизированное антитело", как используют в рамках изобретения, относится к антителу, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области не являющейся человеческой варибельной области заменена соответствующей аминокислотой из варибельной области человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере одну константную область человека или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело представляет собой Fab, scFv, (Fab')<sub>2</sub> и т.д.

"Антитело с пересаженными CDR", как используют в рамках изобретения, относится к гуманизированному антителу, в котором определяющие комплементарность области (CDR) первого (не являющегося человеком) вида пересажены в каркасные области (FR) второго вида (человека).

"Антитело человека", как используют в рамках изобретения, относится к антителам, продуцируемым у человека, антителам, продуцируемым у не являющихся человеком животных, которые содержат гены иммуноглобулина человека, таких как XenoMouse®, и антитела, отобранные с использованием способов *in vitro*, таких как фаговый дисплей, где репертуар антител основан на последовательностях иммуноглобулинов человека.

Термин "лидерная последовательность" относится к последовательности аминокислотных остатков, расположенной на N-конце полипептида, которая облегчает секрецию полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может отщепляться при экспорте полипептида из клетки млекопитающего с образованием зрелого белка. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, и они могут быть гетерологичными или гомологичными для белка, с которым они связаны. Иллюстративные лидерные последовательности включают, но не ограничиваются ими, лидерные последовательности антител, например, такие как аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3 и

4, которые соответствуют лидерным последовательностям легкой и тяжелой цепей человека соответственно. Неограничивающие лидерные последовательности также включают лидерные последовательности из гетерологичных белков. В некоторых вариантах осуществления антитело лишено лидерной последовательности. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну лидерную последовательность, которая может быть выбрана из нативных лидерных последовательностей и гетерологичных лидерных последовательностей.

Термин "вектор" используют для описания полинуклеотида, который может быть сконструирован способами инженерии так, чтобы он содержал клонированный полинуклеотид или полинуклеотиды, которые могут увеличиваться в количестве в клетке-хозяине. Вектор может включать один или несколько из следующих элементов: ориджин репликации, одна или несколько регуляторных последовательностей (например, таких как промоторы и/или энхансеры), которые регулируют экспрессию представляющего интерес полипептида, и/или один или несколько генов селективных маркеров (например, таких как ген устойчивости к антибиотикам и гены, которые можно использовать в колориметрических анализах, например, ген  $\beta$ -галактозидазы). Термин "экспрессирующий вектор" относится к вектору, который используют для экспрессии представляющего интерес полипептида в клетке-хозяине.

"Клетка-хозяин" относится к клетке, которая может быть или является реципиентом вектора или выделенного полинуклеотида. Клетки-хозяева могут представлять собой прокариотические клетки или эукариотические клетки. Иллюстративные эукариотические клетки включают клетки-млекопитающих, такие как клетки приматов или клетки не являющихся приматами животных; клетки грибов, таких как дрожжи; клетки растений и клетки насекомых. Неограничивающие иллюстративные клетки млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, клетки NSO, клетки PER.C6® (Crucell) и клетки 293 и CHO, и их производные, такие как клетки 293-6E и DG44 соответственно.

Термин "выделенный", как используют в рамках изобретения, относится к молекуле, которая отделена по меньшей мере от некоторых компонентов, с которыми она обычно встречается в природе. Например, полипептид называют "выделенным", когда он отделен, по меньшей мере, от некоторых компонентов клетки, в которой он продуцирован. Когда полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид, от клетки, которая продуцировала его, считается "выделением" полипептида. Аналогично полинуклеотид называют "выделенным", когда он не является частью более крупного полинуклеотида (например, такого как геномная ДНК или митохондриальная ДНК, в случае ДНК-полинуклеотида), в котором он обычно встречается в природе, или отделен, по меньшей мере, от некоторых из компонентов клетки, в которой он продуцирован, например в случае РНК-полинуклеотида. Таким образом, ДНК-полинуклеотид, который содержится в векторе внутри клетки-хозяина, может быть обозначен как "выделенный" при условии, что этот полинуклеотид не встречается в этом векторе в природе.

Термин "повышенный уровень" означает более высокий уровень белка в конкретной ткани индивидуума относительно той же ткани у контроля, такого как индивидуум или индивидуумы, которые не страдают злокачественной опухолью или другим состоянием, описанным в настоящем описании. Повышенный уровень может быть результатом любого механизма, такого как повышенная экспрессия, повышенная стабильность, сниженная деградация, повышенная секреция, сниженное выведение и т.д. белка.

Термин "снижать" или "снижает" означает снижение уровня белка в конкретной ткани индивидуума по меньшей мере на 10%. В некоторых вариантах осуществления средство, такое как антитело, которое связывает CSF1R, снижает уровень белка в конкретной ткани индивидуума по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, 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% или по меньшей мере на 90%. В некоторых вариантах осуществления уровень белка снижен относительно уровня белка до приведения в контакт со средством, таким как антитело, которое связывает CSF1R.

Термин "резистентный", когда его используют в контексте резистентности к лекарственному средству, означает сниженный ответ или отсутствие ответа на стандартную дозу лекарственного средства, относительно ответа индивидуума на стандартную дозу лекарственного средства в прошлом или относительно ожидаемого ответа сходного индивидуума со сходным нарушением на стандартную дозу лекарственного средства. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления индивидуум может быть резистентным к лекарственному средству, хотя индивидууму ранее не вводили данное лекарственное средство, или у индивидуума может развиться резистентность к лекарственному средству после ответа на данное средство в один или несколько предшествующих случаев.

Термины "индивидуум" и "пациент" используют в настоящем описании взаимозаменяемо для указания на человека. В некоторых вариантах осуществления также предусматриваются способы лечения млекопитающих, включая, но не ограничиваясь ими, грызунов, обезьян, кошек, собак, лошадей, быков, свиней, овец, коз, лабораторных животных-млекопитающих, сельскохозяйственных животных-млекопитающих, спортивных животных-млекопитающих и домашних животных-млекопитающих.

Термин "образец", как используют в рамках изобретения, относится к композиции, которая получена или происходит из индивидуума, который содержит клеточную и/или другую молекулярную структуру, подлежащую охарактеризации, количественному определению и/или идентификации, например на основе физических, биохимических, химических и/или физиологических характеристик. Иллюстративным образом является образец ткани.

Термин "образец ткани" относится к коллекции сходных клеток, полученных из ткани индивидуума. Источником образца ткани может быть солидная ткань, например, из свежего, замороженного и/или законсервированного образца органа или ткани, или биоптата или аспирата; кровь или любые компоненты крови; жидкости организма, такие как цереброспинальная жидкость, амниотическая жидкость, перитонеальная жидкость, синовиальная жидкость или интерстициальная жидкость; клетки любого срока гестации или развития индивидуума. В некоторых вариантах осуществления образец ткани представляет собой биоптат синовиальной ткани и/или образец синовиальной жидкости. В некоторых вариантах осуществления образец ткани представляет собой образец синовиальной жидкости. Образец ткани может представлять собой первичные или культивируемые клетки или клеточные линии. Необязательно образец ткани получают из ткани/органа, пораженных заболеванием. Образец ткани может содержать соединения, которые в природе не смешаны с тканью, такие как консерванты, антикоагулянты, буферы, фиксационные вещества, антибиотики и т.п. "Контрольный образец" или "контрольная ткань", как используют в рамках изобретения, относится к образцу, клетке или ткани, полученным из известного источника или предположительно не пораженного заболеванием, от которого индивидуума лечат.

Для целей настоящего описания "срез" образца ткани означает часть или фрагмент образца ткани, такой как срез ткани или клеток, вырезанный из образца солидной ткани.

Термин "злокачественная опухоль" используют в настоящем описании для обозначения группы клеток, которые демонстрируют аномально высокие уровни пролиферации и роста. Опухоль может быть доброкачественной (также обозначаемая как доброкачественная опухоль), предзлокачественной или злокачественной.

Злокачественные клетки могут представлять собой клетки солидной злокачественной опухоли или лейкозные злокачественные клетки.

Термин "рост злокачественной опухоли" используют в настоящем описании для обозначения пролиферации или роста клетки или клеток, образующих злокачественную опухоль, которые приводят к соответствующему увеличению размера или степени злокачественной опухоли.

Примеры злокачественной опухоли включают, но не ограничиваются ими, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких злокачественных опухолей включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (включая плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, злокачественную опухоль брюшины, печеночно-клеточный рак, желудочно-кишечный рак, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстого кишечника, рак ободочной и прямой кишки, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечно-клеточный рак, рак печени, рак предстательной железы, рак женских наружных половых органов, рак щитовидной железы, карциному печени, злокачественную опухоль головного мозга, рак эндометрия, рак семенника, холангиокарциному, карциному желчного пузыря, рак желудка, меланому и различные типы рака головы и шеи (включая плоскоклеточную карциному головы и шеи).

Термин "рецидивирующая злокачественная опухоль" относится к злокачественной опухоли, которая возвратилась после режима лечения, после которого существовал период времени, в ходе которого злокачественную опухоль нельзя было обнаружить.

Термин "прогрессирующая злокачественная опухоль" представляет собой злокачественную опухоль, которая увеличилась в размере, или опухоль, распространившуюся после начала режима лечения. В определенных вариантах осуществления прогрессирующая злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль, которая увеличилась в размере, или опухоль, распространившуюся по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40% или по меньшей мере на 50% после начала режима лечения.

"Химиотерапевтическое средство" представляет собой химическое соединение, пригодное для лечения злокачественной опухоли. Примеры химиотерапевтических средств включают, но не ограничиваются ими, алкилирующие средства, такие как тиотепла и циклофосфамид Cytoxan®; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилендиофосфорамид и триметилломеламин; ацетогинины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотетин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги, KW-2189 и СВ1-ТМ1); элеутеробин; панкриастатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие

как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтами, мехлорэтами на оксида гидрохлорид, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднемустин, трюфосфамид, урацил мустард; соединения нитрозомочевинны, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как эндиновые антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гамма II и калихеамицин омега II (см., например, Agnew, *Spet Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994)); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамидин; а также хромофор неокарциностагин и родственные хромопротеиновые хромофоры на основе эндиновых антибиотиков), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, сактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, декторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин Adriamycin® (включая морфолино-доксорубицин, цианоморфолино-доксорубицин, 2-пирролино-доксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марселломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиромицин, пурамицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностагин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, тиероптерин, триметотрексат; аналоги пуринов, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидинов, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; средство для восполнения фолиевой кислоты, такое как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамида гликозид; аминоклевулиновую кислоту; этилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатрексат; дефофамин; демекольцин; диазиквон; эльфорнитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраэрин; пентостагин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангвидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ара-С"); циклофосфамид; тиотепу; таксоиды, например, паклитаксел Taxol® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), не содержащий кремофора состав сконструированных с альбумином наночастиц паклитаксела Abraxane® (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois), и доксетаксел Taxotere® (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France); хлоранбуцил; Gemzar® гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; Navelbine® винорелбин; новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоклутерин; кселоду; ибандронат; иринотекан (камптосар, СРТ-11) (включая режим лечения иринотеканом с 5-FU и лейковорином); ингибитор топоизомераз RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; комбретагастатин; лейковорин (LV); оксалиплатин, включая режим лечения оксалиплатином (FOLFOX); ингибиторы PKC-альфа, Raf, H-Ras, EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva®)) и VEGF-A, который уменьшает пролиферацию клеток, и фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любого из вышеуказанных.

Следующие неограничивающие иллюстративные химиотерапевтические средства включают антигормональные средства, которые действуют, регулируя или ингибируя действие гормонов на злокачественные опухоли, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), включая, например, тамоксифен (включая тамоксифен Nolvadex®), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен Fareston®; ингибиторы ароматазы, которые ингибируют фермент ароматазу, который регулирует продукцию эстрогена в надпочечниках, например такие как 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, магестрола ацетат Megase®, экземестан Aromasin®, форместан, фазрозол, ворозол Rivisor®, лектрозол Femara® и анастрозол Arimidex®; и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, леупролид и гозерелин; а также троксацитабин (1,3-диоксолановый нуклеозидный аналог цитозина); антисмысловые олигонуклеотиды, в частности олигонуклеотиды, которые ингибируют экспрессию генов в каскадах передачи сигнала, вовлеченных в aberrантную пролиферацию клеток, например, таких как PKC-альфа, Ralf и H-Ras; рибозимы, такие как ингибитор экспрессии VEGF (например, рибозим Angiozyme®) и ингибитор экспрессии HER2; вакцины, такие как вакцины для генной терапии, например, вакцина Allovectin®, вакцина Leuvestin® и вакцина Vaxid®; rIL-2 Proleukin®; ингибитор топоизомеразы 1 Lurtotecan®; Abarelx® gmRH и фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любых из описанных выше.

"Антиангиогенное средство" или "ингибитор ангиогенеза" относится к низкомолекулярному веществу, полинуклеотиду (включая, например, ингибиторную РНК (РНК-и или мРНК)), полипептиду, выделенному белку, рекомбинантному белку, антителу или их конъюгатам или слитым белкам, которые ингибируют ангиогенез, образование сосудов или нежелательную сосудистую проницаемость, либо прямо,

либо непрямо. Следует понимать, что антиангиогенное средство включает средства, которые связывают и блокируют ангиогенную активность ангиогенного фактора или его рецептора. Например, антиангиогенное средство представляет собой антитело или другой антагонист ангиогенного агента, например антитела к VEGF-A (например, бевацизумаб (Avastin®)) или к рецептору VEGF-A (например, рецептор KDR или рецептор Flt-1), ингибиторы PDGFR, такие как Gleevec® (иматиниба мезилат), низкомолекулярные соединения, которые блокируют передачу сигнала VEGF (например, PTK787/ZK2284, SU6668, Sutent®/SU11248 (сунитиниба малат), AMG706 или средства, описанные, например, в международной патентной заявке WO 2004/113304). Антиангиогенные средства также включают нативные ингибиторы ангиогенеза, например ангиостатин, эндостатин и т.д. См., например, Klagsbrun and D'Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-39; Streit and Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179 (например, табл. 3, в которой перечислены антиангиогенные средства при злокачественной меланоме); Ferrara & Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5 (12):1359-1364; Tonini et al. (2003) *Oncogene* 22:6549-6556 (например, табл. 2, в которой перечислены известные антиангиогенные факторы); и Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8:200-206 (например, табл. 1, в которой перечислены антиангиогенные средства, используемые в клинических испытаниях).

"Ингибирующее рост средство", как используют в рамках изобретения, относится к соединению или композиции, которые ингибируют рост клетки (такой как клетка, экспрессирующая VEGF), либо *in vitro*, либо *in vivo*. Таким образом, ингибирующее рост средство может представлять собой средство, которое значительно снижает процент клеток (таких как клетка, экспрессирующая VEGF) в S-фазе. Примеры ингибирующих рост средств включают, но не ограничиваются ими, средства, которые блокируют прогрессирование клеточного цикла (в месте, отличном от S-фазы), такие как средства, которые индуцируют остановку в G1 и остановку в M-фазе. Классические блокаторы M-фазы включают алкалоиды барвинка (винкристин и винбластин), таксаны и ингибиторы топоизомеразы II, такие как доксорубин, эпирубин, даунорубин, этопозид и блеомицин. Средства, которые осуществляют остановку в G1, также действуют на S-фазу, например, алкилирующие ДНК средства, такие как тамоксифен, преднизон, дакарбазин, мехлорэтамин, цисплатин, метотрексат, 5-фторурацил и ara-C. Дальнейшая информация может быть найдена в Mendelsohn and Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Глава 1 под названием "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami et al. (W.B. Saunders, Philadelphia, 1995), например, p. 13. Таксаны (паклитаксел и доцетаксел) представляют собой лекарственные средства против злокачественной опухоли, оба из которых происходят из тисового дерева. Доцетаксел (Taxotere®, Rhone-Poulenc Roger), происходящий из тиса европейского, представляет собой полусинтетический аналог паклитаксела (Taxol®, Bristol-Myers Squibb). Паклитаксел и доцетаксел стимулируют сборку микротрубочек из тубулиновых димеров и стабилизируют микротрубочки, препятствуя деполимеризации, что приводит к ингибированию митоза в клетках.

Термин "антинеопластическая композиция" относится к композиции, пригодной для лечения злокачественной опухоли, содержащей по меньшей мере одно активное лекарственное средство. Примеры лекарственных средств включают, но не ограничиваются ими, например, химиотерапевтические средства, ингибирующие рост средства, цитотоксические средства, средства, используемые при лучевой терапии, антиангиогенные средства, иммунотерапевтические средства против злокачественной опухоли, апоптотические средства, антитубулиновые средства и другие средства для лечения злокачественной опухоли, такие как антитела против HER-2, антитела против CD20, антагонист рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, ингибитор тирозинкиназы), ингибитор HER1/EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva®), ингибиторы тромбоцитарного фактора роста (например, Gleevec® (иматиниба мезилат)), ингибитор COX-2 (например, целекоксиб), интерфероны, ингибиторы CTLA4 (например, антитело против CTLA ипелидумаб (YERVOY®)), ингибиторы TIM3 (например, антитела против TIM3), цитокины, антагонисты (например, нейтрализующие антитела), которые связываются с одной или несколькими из следующих мишеней: ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-бета, BlyS, APRIL, BCMA, CTLA4, TIM3 или рецептор(ы) VEGF, TRAIL/Apo2 и другие биологически активные и органические химические средства и т.д. Также изобретение включает их комбинации.

Средство "является антагонистом" активности фактора, когда средство нейтрализует, блокирует, ингибирует, устраняет, снижает и/или препятствует активности фактора, включая его связывание с одним или несколькими рецепторами, когда фактором является лиганд.

"Лечение", как используют в рамках изобретения, относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам, где объект подлежит предупреждению или замедлению (уменьшению) целевого патологического состояния или нарушения. В определенных вариантах осуществления термин "лечение" охватывает любое введение или применение терапевтического средства от заболевания у млекопитающего, включая человека, и он включает ингибирование или замедление заболевания или прогрессирования заболевания; частичное или полное смягчение заболевания, например, путем обеспечения регрессии или восстановления или репарации утраченной, отсутствующей или дефектной функции; стимуляции неэффективного процесса или обеспечения снижения тяжести фазы плато заболевания. Термин "лечение" также включает снижение тяжести любой фенотипической характеристики и/или снижение встречаемости, степени или вероятности этой характеристики. Индивидуумы, ну-

ждающиеся в лечении, включают индивидуумов, уже имеющих нарушение, а также индивидуумов, склонных к наличию нарушения, или индивидуумов, у которых намереваются предупредить нарушение.

Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к количеству лекарственного средства, эффективному для лечения заболевания или нарушения у индивидуума. В определенных вариантах осуществления эффективное количество относится к количеству, эффективному, в необходимых дозировках и в течение необходимых периодов времени, для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата. Терапевтически эффективное количество антитела против CSF1R и/или иммуностимулирующего средства по изобретению может варьироваться в зависимости от таких факторов как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела индивидуума и способность антитела или антител индуцировать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество охватывает количество, в котором любые токсические или вредоносные эффекты антитела или антител перевешиваются терапевтически полезными эффектами. В некоторых вариантах осуществления выражение "эффективное количество" относится к количеству антитела, которое является эффективным для лечения злокачественной опухоли.

"Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, в необходимых дозировках и в течение необходимых периодов времени, для достижения желаемого профилактического результата. Обычно, но не обязательно, поскольку профилактическую дозу используют у индивидуумов до или на ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество является меньшим, чем терапевтически эффективное количество.

Введение "в комбинации с" одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами включает одновременное (совместное) и последовательное (поочередное) введение в любом порядке.

"Фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному веществу для составления или носителю, общепринятым в данной области для применения с лекарственным средством, которые вместе составляют "фармацевтическую композицию" для введения индивидууму. Фармацевтически приемлемый носитель является нетоксичным для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и он является совместимым с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель является пригодным для используемого состава. Например, если лекарственное средство вводят перорально, носитель может представлять собой желатиновую капсулу. Если лекарственное средство вводят подкожно, носитель в идеальном случае не является раздражающим кожу и не вызывает реакцию области инъекции.

#### Антитела против CSF1R

Антитела против CSF1R включают, но не ограничиваются ими, гуманизированные антитела, химерные антитела, антитела мыши, антитела человека и антитела, содержащие CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи, описанные в настоящем описании.

#### Иллюстративные гуманизированные антитела

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются гуманизированные антитела, которые связывают CSF1R.

Гуманизированные антитела являются пригодными в качестве терапевтических молекул, поскольку гуманизированные антитела снижают или устраняют иммунный ответ человека на не являющиеся человеческими антитела (такой как ответ человека против антител мыши (НАМА)), который может приводить к иммунному ответу на антительное терапевтическое средство и к сниженной эффективности терапевтического средства.

Неограничивающие иллюстративные гуманизированные антитела включают с huAb1 по huAb16, описанные в настоящем описании. Неограничивающие иллюстративные гуманизированные антитела также включают антитела, содержащие вариабельную область тяжелой цепи антитела, выбранного из huAb1-huAb16, и/или вариабельную область легкой цепи антитела, выбранного из huAb1-huAb16. Неограничивающие иллюстративные гуманизированные антитела включают антитела, содержащие вариабельную область тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 39-45, и/или вариабельную область легкой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 46-52. Иллюстративные гуманизированные антитела также включают, но не ограничиваются ими, гуманизированные антитела, содержащие CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие иллюстративные гуманизированные антитела против CSF1R включают антитела, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, выбранные из SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29. Неограничивающие иллюстративные гуманизированные антитела против CSF1R также включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, выбранные из SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

Неограничивающие иллюстративные гуманизированные антитела против CSF1R включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, приведенные в табл. 1 (указанные SEQ ID NO; см. таблицу 8 для последовательностей). Каждый ряд в табл. 1

демонстрирует CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи иллюстративно-го антитела.

Таблица 1. CDR тяжелой цепи и легкой цепи

| Ab   | Тяжелая цепь   |                |                | Легкая цепь    |                |                |
|------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|      | CDR1<br>SEQ ID | CDR2<br>SEQ ID | CDR3<br>SEQ ID | CDR1<br>SEQ ID | CDR2<br>SEQ ID | CDR3<br>SEQ ID |
| 0301 | 15             | 16             | 17             | 18             | 19             | 20             |
| 0302 | 21             | 22             | 23             | 24             | 25             | 26             |
| 0311 | 27             | 28             | 29             | 30             | 31             | 32             |

Следующие иллюстративные гуманизированные антитела В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, и где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R содержит легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; где антитело связывает CSF1R.

Как используют в рамках изобретения, наличие у конкретного полипептида, например, по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью можно определять с использованием, например, компьютерной программы. При определении того, является ли конкретная последовательность, например, на 95% идентичной эталонной последовательности, вычисляют процентную идентичность на протяжении всей длины эталонной аминокислотной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, описанных в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR3 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR1 легкой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, описанной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, описанной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, описанной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены относительно CDR, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из аминокислотных замен представляют собой консервативные аминокислотные замены. Специалист в данной области может выбрать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где, согласно прогнозам, подходящие консервативные аминокислотные замены не изменяют значительно связывающих свойств антитела, содержащего мутантную CDR.

Иллюстративные гуманизированные антитела против CSF1R также включают антитела, которые конкурируют за связывание CSF1R с антителом, описанным в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предусматривается гуманизированное антитело против CSF1R, которое конкурирует за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311; и двухвалентной (т.е. имеющей две тяжелых цепи и две легких цепи) версией антител на основе этих Fab.

Иллюстративные константные области гуманизированных антител В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, описанное в настоящем описании, содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека представляет собой константную область тяжелой цепи изотипа, выбранного из IgA, IgG и



IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека представляет собой константную область легкой цепи, выбранную из  $\kappa$  и  $\lambda$ . В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления гуманизованное антитело, описанное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 человека и легкую цепь  $\kappa$  человека.

Выбор константной области тяжелой цепи может определять, будет ли антитело иметь эффекторную функцию *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления такая эффекторная функция включает антителозависимую клеточно-опосредуемую цитотоксичность (ADCC) и/или комплементзависимую цитотоксичность (CDC) и может приводить к уничтожению клетки, с которой связалось антитело. В некоторых способах лечения, включая способы лечения некоторых злокачественных опухолей, может быть желательным уничтожение клеток, например, когда антитело связывается с клеткой, которая поддерживает существование или рост опухоли. Иллюстративные клетки, которые могут поддерживать существование или рост опухоли, включают, но не ограничиваются ими, сами по себе опухолевые клетки, клетки, которые способствуют привлечению сосудов в опухоль, и клетки, которые обеспечивают лиганды, факторы роста или контррецепторы, которые поддерживают или стимулируют рост опухоли или выживание опухоли. В некоторых вариантах осуществления, когда является желательной эффекторная функция, выбирают антитело против CSF1R, содержащее тяжелую цепь IgG1 человека или тяжелую цепь IgG3 человека.

Антитело можно гуманизовать любым способом. Неограничивающие иллюстративные способы гуманизации включают способы, описанные, например, в патентах США № 5530101; 5585089; 5693761; 5693762; 6180370; Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332: 323-27 (1988); Verhoeven et al., Science 239: 1534-36 (1988); и публикации США № US 2009/0136500.

Как отмечалось выше, гуманизованное антитело представляет собой антитело, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области, не являющейся человеческой вариабельной областью, заменена аминокислотой из соответствующего положения в каркасной области человека. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 20 аминокислот в каркасных областях, не являющихся человеческой вариабельной областью, заменены аминокислотой из одного или нескольких соответствующих положений в одной или нескольких каркасных областях человека.

В некоторых вариантах осуществления некоторые из соответствующих аминокислот человека, используемых для замены, взяты из каркасных областей различных генов иммуноглобулинов человека. Таким образом, в некоторых таких вариантах осуществления одна или несколько из не являющихся человеческими аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из каркасной области человека первого антитела человека или кодироваться первым геном иммуноглобулина человека, одна или несколько из не являющихся человеческими аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из каркасной области человека второго антитела человека или кодироваться вторым геном иммуноглобулина человека, одна или несколько из не являющихся человеческими аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из каркасной области человека третьего антитела человека или кодироваться третьим геном иммуноглобулина человека и т.д. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления все из соответствующих аминокислот человека, используемых для замены в одной каркасной области, например FR2, не должны быть из одной и той же каркасной области человека. Однако в некоторых вариантах осуществления все из соответствующих аминокислот человека, используемых для замены, взяты из одного и того же антитела человека или кодируются одним и тем же геном иммуноглобулина человека.

В некоторых вариантах осуществления антитело гуманизируют путем замены одной или нескольких целых каркасных областей соответствующими каркасными областями человека. В некоторых вариантах осуществления выбирают каркасную область человека, которая имеет наиболее высокий уровень гомологии с заменяемой не являющейся человеческой каркасной областью. В некоторых вариантах осуществления такое гуманизованное антитело представляет собой антитело с пересаженной CDR.

В некоторых вариантах осуществления после пересадки CDR одну или несколько каркасных аминокислот заменяют обратно на соответствующую аминокислоту в каркасной области мыши. В некоторых вариантах осуществления такие "обратные мутации" проводят для сохранения одной или нескольких каркасных аминокислот мыши, которые, по-видимому, вносят вклад в структуру одной или нескольких из CDR, и/или которые могут быть вовлечены в антигенные контакты, и/или, по-видимому, вовлечены в общую структурную целостность антитела. В некоторых вариантах осуществления в каркасные области антитела после пересадки CDR вносят десять или менее, девять или менее, восемь или менее, семь или менее, шесть или менее, пять или менее, четыре или менее, три или менее, две или менее одну или ноль

обратных мутаций.

В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело также содержит константную область тяжелой цепи человека и/или константную область легкой цепи человека.

#### Иллюстративные химерные антитела

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R представляет собой химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну не являющуюся человеческой вариабельную область и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых таких вариантах осуществления все из вариабельных областей антитела против CSF1R представляют собой не являющиеся человеческими вариабельные области и все из константных областей антитела против CSF1R представляют собой константные области человека. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько вариабельных областей химерного антитела представляют собой вариабельные области мыши. Константная область человека в химерном антителе не должна быть того же изотипа, что и не являющаяся человеческой константная область, при ее наличии, которую она заменяет. Химерные антитела рассмотрены, например, в патенте США № 4816567 и Morrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-55 (1984).

Неограничивающие иллюстративные химерные антитела включают химерные антитела, содержащие вариабельные области тяжелой и/или легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. Дополнительные неограничивающие иллюстративные химерные антитела включают химерные антитела, содержащие CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

Неограничивающие иллюстративные химерные антитела против CSF1R включают антитела, содержащие следующие пары вариабельных областей тяжелой и легкой цепей: SEQ ID NO: 9 и 10; SEQ ID NO: 11 и 12; и SEQ ID NO: 13 и 14.

Неограничивающие иллюстративные антитела против CSF1R включают антитела, содержащие набор CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, показанный выше в табл. 1.

#### Следующие иллюстративные химерные антитела

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; где антитело связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, описанных в настоящем описании. Иными словами, в некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR3 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR1 легкой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, описанной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, описанной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, описанной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены относительно CDR, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из аминокислотных замен представляют собой консервативные аминокислотные замены. Специалист в данной области может выбрать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где, согласно прогнозам, подходящие консервативные аминокислотные замены не изменяют в значительной степени свойства связывания антитела, содержащего мутантную CDR.

Иллюстративные химерные антитела против CSF1R также включают химерные антитела, которые конкурируют за связывание CSF1R с антителом, описанным в настоящем описании. Таким образом, в

некоторых вариантах осуществления предусматривается химерное антитело против CSF1R, которое конкурирует за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311; и двухвалентными (т.е. имеющими две тяжелых цепи и две легких цепи) версиями антител на основе этих Fab.

#### Иллюстративные константные области химерных антител

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем описании, содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека представляет собой константную область тяжелой цепи, выбранную из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека представляет собой константную область легкой цепи, выбранную из  $\kappa$  и  $\lambda$ . В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 человека и легкую цепь  $\kappa$  человека.

Как отмечалось выше, то, является ли желательным наличие эффекторной функции, может зависеть от конкретного способа лечения, предусматриваемого для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда является желательной эффекторная функция, выбирают химерное антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция не является желательной, выбирают химерное антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

#### Иллюстративные антитела человека

Антитела человека можно получать любым пригодным способом. Неограничивающие иллюстративные способы включают получение антител человека в трансгенных мышах, которые содержат локусы иммуноглобулинов человека. См., например, Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551-55 (1993); Jakobovits et al., Nature 362: 255-8 (1993); Lonberg et al., Nature 368: 856-9 (1994); и патенты США № 5545807; 6713610; 6673986; 6162963; 5545807; 6300129; 6255458; 5877397; 5874299 и 5545806.

Неограничивающие иллюстративные способы также включают получение антител человека с использованием библиотек фагового дисплея. См., например, Hoogenboom et al., J. Mol. Biol. 227: 381-8 (1992); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-97 (1991) и публикацию PCT № WO 99/10494.

В некоторых вариантах осуществления антитело человека против CSF1R связывается с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 1. Иллюстративные антитела человека против CSF1R также включают антитела, которые конкурируют за связывание CSF1R с антителом, описанным в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предусматривается антитело человека против CSF1R, которое конкурирует за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311, и двухвалентными (т.е. имеющими две тяжелых цепи и две легких цепи) версиями антител на основе этих Fab.

В некоторых вариантах осуществления антитело человека против CSF1R содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека представляет собой константную область тяжелой цепи изотипа, выбранного из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека представляет собой константную область легкой цепи, выбранную из  $\kappa$  и  $\lambda$ . В некоторых вариантах осуществления антитело человека, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления антитело человека, описанное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления антитело человека, описанное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело человека, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 человека и легкую цепь  $\kappa$  человека.

В некоторых вариантах осуществления, когда желательно, выбирают антитело человека против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция является нежелательной, выбирают антитело человека против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

#### Дополнительные иллюстративные антитела против CSF1R

Иллюстративные антитела против CSF1R также включают, но не ограничиваются ими, антитела мыши, гуманизированные антитела, антитела человека, химерные антитела и сконструированные антитела, которые содержат, например, одну или несколько последовательностей CDR, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область тяжелой цепи, описанную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область легкой цепи, описанную в настоящем описании. В



52; где антитело связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, описанных в настоящем описании. Иными словами, в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR3 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR1 легкой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, описанной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, описанной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, описанной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены относительно CDR, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из аминокислотных замен представляют собой консервативные аминокислотные замены. Специалист в данной области может выбрать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где, согласно прогнозам, подходящие консервативные аминокислотные замены не изменяют значительно свойств связывания антитела, содержащего мутантную CDR.

Иллюстративные антитела против CSF1R также включают антитела, которые конкурируют за связывание CSF1R с антителом, описанным в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предусматривается антитело против CSF1R, которое конкурирует за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311, и двухвалентными (т.е. имеющими две тяжелых цепи и две легких цепи) версиями антител на основе этих Fab.

#### Иллюстративные константные области антител

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем описании, содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека представляет собой константную область тяжелой цепи изотипа, выбранного из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека представляет собой константную область легкой цепи, выбранную из κ и λ. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 человека и легкую цепь κ человека.

Как отмечалось выше, то, является ли желательной эффекторная функция, может зависеть от конкретного способа лечения, предусматриваемого для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция является желательной, выбирают антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция не является желательной, выбирают антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

#### Иллюстративные переменные области тяжелой цепи антитела против CSF1R

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются переменные области тяжелой цепи антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R представляет собой переменную область мыши, переменную область человека или гуманизованную переменную область.

Переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R, кроме того, содержит FR1 и/или FR4 тяжелой цепи. Неограничивающие иллюстративные переменные области тяжелой цепи включают, но не ограничиваются ими, переменные области тяжелой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 15, 21 и 27.

В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 16, 22 и 28.

В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17, 23 и 29.

Неограничивающие иллюстративные переменные области тяжелой цепи включают, но не ограничиваются ими, переменные области тяжелой цепи, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по

меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, где тяжелая цепь, вместе с легкой цепью, способна образовывать антитело, которое связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, описанных в настоящем описании. Иными словами, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании, и CDR3 тяжелой цепи, описанной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, описанной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены относительно CDR, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из аминокислотных замен представляют собой консервативные аминокислотные замены. Специалист в данной области может выбрать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где, согласно прогнозам, подходящие консервативные аминокислотные замены не изменяют в значительной степени свойства связывания тяжелой цепи, содержащей мутантную CDR.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека представляет собой константную область тяжелой цепи изотипа, выбранного из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека представляет собой константную область IgG. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит мутацию S241P.

В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция является желательной, тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи IgG1 или IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция является менее желательной, тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Иллюстративные переменные области легкой цепи антитела против CSF1R

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются переменные области легкой цепи антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи антитела против CSF1R представляет собой переменную область мыши, переменную область человека или гуманизированную переменную область.

Переменная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3 легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи антитела против CSF1R, кроме того, содержит FR1 и/или FR4 легкой цепи. Неограничивающие иллюстративные переменные области легкой цепи включают переменные области легкой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30.

В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31.

В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32.

Неограничивающие иллюстративные переменные области легкой цепи включают, но не ограничиваются ими, переменные области легкой цепи, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где легкая цепь, вместе с тяжелой цепью, способна образовывать антитело, которое связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, описанных в настоящем описании. Иными словами, в некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 легкой цепи, описанной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, описанной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, описанной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, описанной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены относительно CDR, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из аминокислотных замен представляют собой консервативные аминокислотные замены.

Специалист в данной области может выбрать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где, согласно прогнозам, подходящие консервативные аминокислотные замены не изменяют в значительной степени свойств связывания легкой цепи, содержащей мутантную CDR.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит константную область легкой цепи человека. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека выбрана из константной области легкой цепи к человека и  $\lambda$  человека.

Иллюстративные дополнительные, связывающие CSF1R молекулы

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются дополнительные молекулы, которые связывают CSF1R. Такие молекулы включают, но не ограничиваются ими, неканонические каркасы, такие как антикаины, аднектины, анкириновые повторы и т.д. См., например, Hosse et al., *Prot. Sci.* 15:14 (2006); Fiedler, M. and Skerra, A., "Non-Antibody Scaffolds," pp. 467-499, *Handbook of Therapeutic Antibodies*, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007.

Иллюстративные свойства антител против CSF1R

В некоторых вариантах осуществления антитело, имеющее структуру, описанную выше, связывается с CSF1R с аффинностью связывания ( $K_D$ ) менее 1 нМ, блокирует связывание CSF1 и/или IL-34 с CSF1R и ингибирует фосфорилирование CSF1R, индуцируемое CSF1 и/или IL-34.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R связывается с внеклеточным доменом CSF1R (CSF1R-ECD). В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R обладает аффинностью связывания ( $K_D$ ) с CSF1R менее 1 нМ, менее 0,5 нМ, менее 0,1 нМ или менее 0,05 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R обладает  $K_D$  от 0,01 до 1 нМ, от 0,01 до 0,5 нМ, от 0,01 до 0,1 нМ, от 0,01 до 0,05 нМ или от 0,02 до 0,05 нМ.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание лиганда с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание IL-34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание как CSF1, так и IL-34, с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое блокирует связывание лиганда, связывается с внеклеточным доменом CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует связывание лиганда с CSF1R, когда оно уменьшает уровень поддающегося обнаружению связывания лиганда с CSF1R по меньшей мере на 50%, при использовании описанного анализа, например в патенте США № 8206715 B2, пример 7, который включен в настоящее описание в качестве ссылки для любой цели. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает уровень поддающегося обнаружению связывания лиганда с CSF1R по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%. В некоторых таких вариантах осуществления считается, что антитело блокирует связывание лиганда по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое CSF1 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое IL-34 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует как индуцируемое CSF1, так и индуцируемое IL-34 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело считается "ингибирующим индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R", когда оно снижает уровень поддающегося обнаружению индуцированного лигандом фосфорилирования CSF1R по меньшей мере на 50% при использовании описанного анализа, например в патенте США № 8206715 B2, пример 6, который включен в настоящее описание в качестве ссылки для любой цели. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает уровень поддающегося обнаружению индуцированного лигандом фосфорилирования CSF1R по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%. В некоторых таких вариантах осуществления считается, что антитело ингибирует индуцированное лигандом фосфорилирование CSF1R по меньшей мере по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует пролиферацию моноцитов и/или ответы выживания в присутствии CSF1 и/или IL-34. В некоторых вариантах осуществления антитело считается "ингибирующим пролиферацию моноцитов и/или ответы выживания", когда оно снижает пролиферацию моноцитов и/или ответы выживания в присутствии CSF1 и/или IL-34 по меньшей мере на 50% при использовании описанного анализа, например в патенте США № 8206715 B2, пример 10, который включен в настоящее описание в качестве ссылки для любой цели. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает уровень пролиферации моноцитов и/или ответы выживания в присутствии CSF1 и/или IL-34 по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%. В некоторых таких вариантах осуществления считается, что антитело ингибирует пролиферацию моноцитов и/или ответы выживания по меньшей мере по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

## Иллюстративные иммуностимулирующие средства

Имуностимулирующие средства могут включать, например, низкомолекулярное лекарственное средство, антитело или его фрагмент или другие биологические или низкомолекулярные соединения. Примеры биологических иммуностимулирующих средств включают, но не ограничиваются ими, антитела, фрагменты антител, фрагменты полипептидов рецепторов или лигандов, например, которые блокируют связывание рецептор-лиганд, вакцины и цитокины. В одном аспекте антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых аспектах моноклональное антитело представляет собой гуманизованное антитело или антитело человека.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, в то время как в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист иммунной ингибиторной молекулы, включая коингибиторную молекулу. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, находящуюся на иммунных клетках, таких как Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист иммунной ингибиторной молекулы, включая коингибиторную молекулу, находящуюся на иммунных клетках, таких как Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, находящуюся на клетках, вовлеченных во врожденный иммунитет, таких как НК-клетки. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист иммунной ингибиторной молекулы, включая коингибиторную молекулу, находящуюся на клетках, вовлеченных во врожденный иммунитет, таких как НК-клетки. В некоторых вариантах осуществления комбинация усиливает ответ антигенспецифических Т-клеток у подвергаемого лечению индивидуума и/или усиливает врожденный иммунный ответ у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления комбинация приводит к усиленному противоопухолевому ответу в модели злокачественной опухоли на животных, такой как модель с ксенотрансплантатом, по сравнению с введением либо антитела против CSF1R, либо иммуностимулирующего средства, отдельно. В некоторых вариантах осуществления комбинация приводит к синергичному ответу в модели злокачественной опухоли на животных, такой как модель с ксенотрансплантатом, по сравнению с введением либо антитела против CSF1R, либо иммуностимулирующего средства, отдельно.

В определенных вариантах осуществления иммуностимулирующее средство нацелено на стимулирующую или ингибиторную молекулу, которая является представителем суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF). Например, иммуностимулирующее средство может представлять собой средство, которое нацелено на (или специфически связывается с) представителя семейства B7 мембраносвязанных лигандов, которое включает B7-1, B7-2, B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6, или костимулирующий или коингибиторный рецептор, связывающийся специфически с представителем семейства B7. Иммуностимулирующее средство может представлять собой средство, которое нацелено на представителя семейства TNF мембраносвязанных лигандов или костимулирующий или коингибиторный рецептор, связывающийся специфически с представителем семейства TNF. Иллюстративные представители семейств TNF и TNFR, на которые могут быть нацелены иммуностимулирующие средства, включают CD40 и CD40L, OX-40, OX-40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT $\beta$ R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, лимфотоксин  $\alpha$ /TNF $\beta$ , TNFR2, TNF $\alpha$ , LT $\beta$ R, лимфотоксин  $\alpha$  1 $\beta$ 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY и NGFR. Иммуностимулирующее средство может представлять собой средство, например антитело, нацеленное на представителя IgSF, такой как представитель семейства B7, представитель семейства рецепторов B7, представитель семейства TNF или представитель семейства TNFR, такой как представители, описанные выше.

В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующее средство может включать (i) антагонист белка, который ингибирует активацию Т-клеток (например, ингибитор иммунной точки контроля), такого как CTLA-4, LAG-3, TIM3, галектин 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, галектин-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, TIM-4 и ILT4, и/или может включать (ii) агонист белка, который стимулирует активацию Т-клеток, такого как B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, CD40L, DR3 и CD28H.

В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующее средство может включать средство, которое ингибирует или является антагонистом цитокина, который ингибирует активацию Т-клеток (например, IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ , VEGF и другие иммуносупрессорные цитокины), и в некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующее средство может включать средство, которое является агонистом цитокина, такого как IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и IFN $\alpha$  (например, сам цитокин), которое стимулирует активацию Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующие средства могут



включать антагонист хемокина, такого как CXCR2 (например, МК-7123), CXCR4 (например, AMD3100), CCR2 или CCR4 (могамулизумаб).

В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующие средства могут включать антагонисты ингибиторных рецепторов на NK-клетках или агонисты активирующих рецепторов на NK-клетках. Например, антитело против CSF1R можно комбинировать с антагонистом KIR, необязательно вместе по меньшей мере с одним другим иммуностимулирующим средством, таким как агонист CD40.

Имуностимулирующие средства также могут включать средства, которые ингибируют передачу сигнала TGF- $\beta$ , средства, которые усиливают представление опухолевых антигенов, например, вакцины на основе дендритных клеток, секретирующие GM-CSF клеточные вакцины, CpG-олигонуклеотиды и имиквимод, или способы терапии, которые повышают иммуногенность опухолевых клеток (например, антрациклины).

Имуностимулирующие средства также могут включать определенные вакцины, такие как нацеленные на мезотелин вакцины или вакцины против злокачественной опухоли на основе ослабленных листерий, такие как CRS-207.

Имуностимулирующие средства также могут включать средства, которые истощают или блокируют клетки Treg, такие как средства, которые специфически связываются с CD25.

Имуностимулирующие средства также могут включать средства, которые ингибируют метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназа (IDO), диоксигеназа, аргиназа или синтаза оксида азота.

Имуностимулирующие средства также могут включать средства, которые ингибируют образование аденозина или ингибируют рецептор аденозина A2A.

Имуностимулирующие средства также могут включать средства, которые обращают вспять/препятствуют анергии или истощению T-клеток, и средства, которые запускают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в области опухоли.

Антитело против CSF1R можно комбинировать с более чем одним иммуностимулирующим средством, например с агонистом CD40 и по меньшей мере одним дополнительным иммуностимулирующим средством. Антитело против CSF1R, необязательно вместе с агонистом CD40, можно комбинировать с комбинаторным подходом, который нацелен на множество элементов иммунного каскада, как, например, одно или несколько из следующих: по меньшей мере одно средство, которое усиливает представление опухолевых антигенов (например, вакцина на основе дендритных клеток, секретирующие GM-CSF клеточные вакцины, CpG-олигонуклеотиды, имиквимод); по меньшей мере одно средство, которое ингибирует отрицательную иммунную регуляцию, например, посредством ингибирования каскада CTLA-4 и/или истощения или блокирования Treg или других иммуносупрессорных клеток; терапия, которая стимулирует положительную иммунную регуляцию, например, посредством агонистов, которые стимулируют каскад CD-137, OX-40 и/или GITR и/или стимулируют эффекторную функцию T-клеток; по меньшей мере одно средство, которое системно повышает частоту противоопухолевых T-клеток; терапию, которая истощает или ингибирует Treg, такие как Treg в опухоли, например, с использованием антагониста CD25 (например, даклизумаб) или посредством истощения с использованием гранул, направленных против CD25, *ex vivo*; по меньшей мере одно средство, которое воздействует на функцию супрессорных миелоидных клеток в опухоли; терапия, которая повышает иммуногенность опухолевых клеток (например, антрациклины); адоптивный перенос T-клеток или NK-клеток, в том числе генетически модифицированных клеток, например клеток, модифицированных посредством химерных рецепторов антигенов (терапия CAR-T); по меньшей мере одно средство, которое ингибирует метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназа (IDO), диоксигеназа, аргиназа или синтаза оксида азота; по меньшей мере одно средство, которое обращает вспять/препятствует анергии или истощению T-клеток; терапия, которая запускает активацию врожденного иммунитета и/или воспаления в области опухоли; введение иммуностимулирующих цитокинов или блокирование иммуносупрессорных цитокинов.

Например, антитело против CSF1R, необязательно с агонистом CD40, можно использовать с одним или несколькими средствами-агонистами, которые лигируют положительные костимулирующие рецепторы; одним или несколькими антагонистами (блокирующими средствами), которые ослабляют передачу сигнала через ингибиторные рецепторы, такими как антагонисты, которые преодолевают различные иммуносупрессорные каскады в микроокружении опухоли; одним или несколькими средствами, которые системно повышают частоту противоопухолевых иммунных клеток, таких как T-клетки, истощают или ингибируют Treg (например, посредством ингибирования CD25); одним или несколькими средствами, которые ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO; одним или несколькими средствами, которые обращают вспять/препятствуют анергии или истощению T-клеток; и одно или несколько средств, которые запускают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в областях опухоли.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист CTLA-4, такой как антитело-антагонист CTLA-4. Подходящие антитела против CTLA-4 включают, например YERVOY (ипилидумаб) или тремелидумаб.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист LAG-3, такой как антитело-антагонист LAG-3. Подходящие антитела против LAG3 включают, например, BMS-986016 (WO10/19570, WO14/08218), или IMP-731, или IMP-321 (WO

08/132601, WO 09/44273).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист CD137 (4-1BB), такой как антитело-агонист CD137. Подходящие антитела против CD137 включают, например, урелумаб или PF-05082566 (WO 12/32433).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист GITR, такой как антитело-агонист GITR. Подходящие антитела против GITR включают, например, TRX-518 (WO 06/105021, WO 09/009116), МК-4166 (WO 11/028683) или антитело против GITR, описанное в WO 2015/031667.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист OX40, такой как антитело-агонист OX40. Подходящие антитела против OX40 включают, например, MEDI-6383, MEDI-6469 или MOXR0916 (RG7888; WO 06/029879).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист CD27, такой как антитело-агонист CD27. Подходящие антитела против CD27 включают, например варлилумаб (CDX-112 7).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает MGA271, которое нацелено на V7H3 (WO 11/109400).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист KIR, такой как лирилумаб.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист IDO.

Антагонисты IDO включают, например, INCB-024360 (WO 2006/122150, WO 07/75598, WO 08/36653, WO 08/36642), индоксимод, NLG-919 (WO 09/73620, WO 09/1156652, WO 11/56652, WO 12/142237) или F001287.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист Toll-подобного рецептора, например, агонист TLR2/4 (например, бацилла Кальметта-Герена); агонист TLR7 (например, хилтонол или имиквимод); агонист TLR7/8 (например, резиквимод) или агонист TLR9 (например, CpG7909).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает ингибитор TGF- $\beta$ , например GC1008, LY2157299, TEW7197 или IMC-TR1.

Агонисты CD40 и иллюстративные молекулы-агонисты CD40

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист CD40, необязательно вместе по меньшей мере с одним дополнительным иммуностимулирующим средством, как описано в настоящем описании. Молекула клеточной поверхности CD40 является представителем суперсемейства рецептора фактора некроза опухоли, и она экспрессируется антигенпредставляющими клетками, такими как дендритные клетки, В-клетки, макрофаги и моноциты, и также экспрессируется на других типах клеток, включая иммунные, гемопоэтические, сосудистые и эпителиальные клетки, а также на различных опухолевых клетках. В антигенпредставляющих клетках передача сигнала CD40 приводит к активации и положительной регуляции костимулирующих молекул Т-клеток и других важных иммунных медиаторов, требуемых для индукции иммунного ответа. Агонисты CD40 являются потенциальными средствами для терапии злокачественной опухоли, вызывающими регрессию опухоли как через активацию противоопухолевого иммунитета, так и через прямой цитотоксический эффект на опухолевые клетки. Нацеленные на CD40 способы терапии прошли клиническую оценку I фазы у пациентов со злокачественной опухолью развернутой стадии, и первоначальные данные показали эффективность в отсутствие значительной токсичности.

Что касается CD40, например, в моделях на животных было показано, что лигирование CD40 на дендритных клетках приводит к активации цитотоксических Т-лимфоцитов, которые опосредуют уничтожение опухоли (Marzo et al., 2000, J. Immunol.; Todryk et al., 2001, J. Immunol. Methods.) Активация CD40 на макрофагах приводит к туморицидной активности (Beatty et al., 2011, Science), и цитокины, продуцируемые из стимулированных CD40 антигенпредставляющих клеток, приводят к активации натуральных киллеров, важных для уничтожения опухоли. Учитывая комплексную природу противоопухолевого иммунного ответа, эффективная терапия злокачественной опухоли может потребовать комбинирования нескольких иммунотерапевтических средств. В соответствии с этим было показано, что низкомолекулярное ингибирование CSF1R действует синергично с блокадой иммунной точки контроля с помощью антитела против PD1 в модели опухоли поджелудочной железы. См. Zhu et al., 2014, Cancer Res., 74: 5057-5069. Таким образом, опухоли, которые имеют экспрессирующие CSF1R TAM, могут быть чувствительными к комбинированной терапии антителом против CSF1R и агонистом CD40.

Иллюстративные агонисты CD40 композиций и способов по настоящему изобретению включают, например, антитела против CD40, которые повышают активность CD40. Такие антитела могут представлять собой гуманизированные антитела, химерные антитела, антитела мыши, антитела человека и антитела, содержащие CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи антитела против CD40, описанного в настоящем описании.

В данной области известны различные антитела-агонисты CD40. Неограничивающие иллюстратив-

ные антитела-агонисты CD40 включают, но не ограничиваются ими, CP-870.893 (Pfizer и VLST; антитело 21.4.1 в EP 1476185 B1 и патенте США № 7338660; также см. [clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02225002](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02225002)); дацетузмаб (Seattle Genetics; SEQ ID NO: 98 и 99 в настоящем описании; также см. патент США № 6946129 и патент США № 8303955); RO7009789 (Roche; см., например, [clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02304393](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02304393)); ADC-1013 (Alligator Bioscience; публикация США № 2014/0348836; также см. [clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02379741](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02379741)); SEA-CD40 (Seattle Genetics; афукозилированная форма антитела, содержащего SEQ ID NO: 98 и 99; также см. [clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02376699](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02376699)); и Chi Lob 7/4 (Univ. Southampton; публикация США № 2009/0074711; также см. [clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01561911](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01561911)). См., например, Vonderheide et al., 2013, Clin Cancer Res 19:1035.

Иллюстративные агонисты CD40 также включают рекомбинантный CD40L.

#### Иллюстративные конъюгаты антител

В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгировано с меткой и/или цитотоксическим средством. Как используют в рамках изобретения, метка представляет собой часть, которая облегчает обнаружение антитела и/или облегчает обнаружение молекулы, с которой антитело связывается. Неограничивающие иллюстративные метки включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы, флуоресцентные группы, ферментные группы, хемилюминесцентные группы, биотин, эпитопные метки, связывающие металл метки и т.д. Специалист в данной области может выбрать подходящую метку в соответствии с предполагаемым применением.

Как используют в рамках изобретения, цитотоксическое средство представляет собой часть, которая снижает пролиферативную способность одной или нескольких клеток. Клетка имеет сниженную пролиферативную способность, когда клетка становится в меньшей степени способной пролиферировать, например, поскольку клетка претерпевает апоптоз или иным образом погибает, клетка прекращает прохождение через клеточный цикл и/или не делится, клетка дифференцируется и т.д. Неограничивающие цитотоксические средства включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы, токсины и химиотерапевтические средства. Специалист в данной области может выбрать подходящее цитотоксическое средство в соответствии с предполагаемым применением.

В некоторых вариантах осуществления метку и/или цитотоксическое средство конъюгируют с антителом с использованием химических способов *in vitro*. Неограничивающие иллюстративные химические способы конъюгации известны в данной области и включают услуги, способы и/или реагенты, коммерчески доступные, например, от Thermo Scientific Life Science Research Produces (панее Pierce; Rockford, IL), Prozyme (Hayward, CA), SACRI Antibody Services (Calgary, Canada), AbD Serotec (Raleigh, NC) и т.д. В некоторых вариантах осуществления, когда метка и/или цитотоксическое средство представляет собой полипептид, метка и/или цитотоксическое средство может экспрессироваться с одного и того же экспрессирующего вектора с по меньшей мере одной цепью антитела с образованием полипептида, содержащего метку и/или цитотоксическое средство, слитые с цепью антитела. Специалист в данной области может выбрать подходящий способ для конъюгации метки и/или цитотоксического средства с антителом в соответствии с предполагаемым применением.

#### Иллюстративные лидерные последовательности

Чтобы некоторые секретлируемые белки экспрессировались и секретировались в больших количествах, может быть желательной лидерная последовательность из гетерологичного белка. В некоторых вариантах осуществления лидерная последовательность выбрана из SEQ ID NO: 3 и 4, которые представляют собой лидерные последовательности легкой цепи и тяжелой цепи соответственно. В некоторых вариантах осуществления использование гетерологичных лидерных последовательностей может быть преимущественным, поскольку полученный зрелый полипептид может оставаться неизменным, когда лидерная последовательность удаляется в ER в ходе процесса секреции. Добавление гетерологичной лидерной последовательности может требоваться для экспрессии и секреции некоторых белков.

Определенные иллюстративные лидерные последовательности описаны, например, в базе данных Leader sequence Database, поддерживаемой Department of Biochemistry, National University of Singapore. См. Choo et al., BMC Bioinformatics, 6: 249 (2005) и публикацию PCT № WO 2006/081430. Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитела

Предусматриваются молекулы нуклеиновых кислот, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют одну или несколько цепей антитела. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь или легкую цепь антитела. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит как полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, так и полинуклеотид, который кодирует легкую цепь, антитела. В некоторых вариантах осуществления первая молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, и вторая молекула нуклеиновой кислоты содержит второй полинуклеотид, который кодирует легкую цепь.

В некоторых таких вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются с одной молекулы нуклеиновой кислоты или с двух отдельных молекул нуклеиновой кислоты, в качестве двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления, например, когда антитело представляет собой scFv, единый полинуклеотид кодирует единый полипептид, содержащий как тяжелую цепь, так

и легкую цепь, связанные вместе.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует лидерную последовательность, которая, когда она транслируется, расположена на N-конце тяжелой цепи или легкой цепи. Как описано выше, лидерная последовательность может представлять собой нативную лидерную последовательность тяжелой или легкой цепи, или она может представлять собой другую гетерологичную лидерную последовательность.

Молекулы нуклеиновых кислот можно конструировать с использованием способов рекомбинантных ДНК, общепринятых в данной области. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты представляет собой экспрессирующий вектор, который пригоден для экспрессии в выбранной клетке-хозяине.

#### Экспрессия и продукция антител Векторы

Предусматриваются векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи и/или легкие цепи антител. Также предусматриваются векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи и/или легкие цепи антител. Такие векторы включают, но не ограничиваются ими, ДНК-векторы, фаговые векторы, вирусные векторы, ретровирусные векторы и т.д. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит первую полинуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, и вторую полинуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются с вектора в качестве двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются в качестве части единого полипептида, например, когда антитело представляет собой scFv.

В некоторых вариантах осуществления первый вектор содержит полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, и второй вектор содержит полинуклеотид, который кодирует легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления первый вектор и второй вектор трансфицируют в клетки-хозяева в сходных количествах (таких как сходные молярные количества или сходные количества по массе). В некоторых вариантах осуществления клетки трансфицируют с использованием молярного или массового соотношения первого вектора и второго вектора от 5:1 до 1:5. В некоторых вариантах осуществления для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь, используют массовое соотношение от 1:1 до 1:5. В некоторых вариантах осуществления для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь, используют массовое соотношение 1:2.

В некоторых вариантах осуществления выбирают вектор, который оптимизирован для экспрессии полипептидов в клетках CHO или клетках, происходящих из CHO, или в клетках NSO. Иллюстративные такие векторы описаны, например, в Running Deeg et al., *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004).

В некоторых вариантах осуществления вектор выбран для экспрессии *in vivo* тяжелых цепей антител и/или легких цепей антител у животных, включая человека. В некоторых таких вариантах осуществления экспрессия полипептида находится под контролем промотора, который функционирует тканеспецифическим образом. Например, специфические для печени промоторы описаны, например, в публикации PCT № WO 2006/076288.

#### Клетки-хозяева

В различных вариантах осуществления тяжелые цепи и/или легкие цепи антител можно экспрессировать в прокариотических клетках, таких как бактериальные клетки; или в эукариотических клетках, таких как клетки грибов (таких как дрожжи), клетки растений, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Такую экспрессию можно проводить, например, по методикам, известным в данной области. Иллюстративные эукариотические клетки, которые можно использовать для экспрессии полипептидов, включают, но не ограничиваются ими, клетки COS, включая клетки COS 7; клетки 293, включая клетки 293-6E; клетки CHO, включая клетки CHO-S и DG44; клетки PER.C6® (Crucell) и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления тяжелые цепи и/или легкие цепи антител можно экспрессировать в дрожжах. См., например, публикацию США № US 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления конкретную эукариотическую клетку-хозяина выбирают, исходя из ее способности вносить желаемые посттрансляционные модификации в тяжелые цепи и/или легкие цепи антител. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки CHO продуцируют полипептиды, которые имеют более высокий уровень сигналирования, чем тот же полипептид, продуцируемый в клетках 293.

Введение одной или нескольких нуклеиновых кислот в желаемую клетку-хозяина можно проводить любым способом, включая, но не ограничиваясь ими, трансфекцию с фосфатом кальция, опосредуемую DEAE-декстраном трансфекцию, опосредуемую катионными липидами трансфекцию, электропорацию, трансдукцию, инфекцию и т.д. Неограничивающие иллюстративные способы описаны, например, в Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3<sup>rd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Нуклеиновые кислоты можно трансфицировать в желаемые клетки-хозяева временно или стабильно, в соответствии с любым подходящим способом.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько полипептидов можно продуцировать *in vivo* у животного, модифицированного способами инженерии посредством или трансфицированного од-

ной или несколькими молекулами нуклеиновых кислот, кодирующими полипептиды, согласно любому подходящему способу.

#### Очистка антител

Антитела можно очищать любым подходящим способом. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, использование аффинных матриц или хроматографии гидрофобного взаимодействия. Подходящие аффинные лиганды включают антиген и лиганды, которые связывают константные области антител. Например, для связывания константной области и для очистки антитела можно использовать аффинную колонку с белком А, белком G, белком A/G или антителом. Также для очистки некоторых полипептидов может быть пригодна хроматография гидрофобного взаимодействия, например бутиловая или фениловая колонка. В данной области известно множество способов очистки полипептидов.

#### Бесклеточная продукция антител

В некоторых вариантах осуществления антитело продуцируют в бесклеточной системе. Неограничивающие иллюстративные бесклеточные системы описаны, например, в Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009); Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004); Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003).

#### Терапевтические композиции и способы

##### Способы лечения злокачественной опухоли

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения злокачественной опухоли, включающие введение эффективного количества антитела против CSF1R и эффективного количества по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство вводят одновременно. Например, терапевтические средства можно вводить путем совместной инфузии или инъектировать приблизительно в одно время. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство вводят последовательно. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят последовательно до или после по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, так что два терапевтических средства вводят с интервалом 30, 60, 90, 120 мин, 3, 6, 12, 24, 36, 48 ч, 3, 5, 7 суток или две недели.

В некоторых вариантах осуществления перед введением по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства вводят по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления перед введением антитела против CSF1R вводят по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу иммуностимулирующего средства по меньшей мере за одну, за две, за три, за пять или за десять суток, или за одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы ингибитора CSF1R. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу ингибитора CSF1R вводят по меньшей мере за одну, за две, за три, за пять, за десять суток или за одну, за две, за три, за пять, за двенадцать или за двадцать четыре недели до первой дозы по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления индивидууму проводили или проводят терапию по меньшей мере одним иммуностимулирующим средством и к терапевтическому режиму добавляют антитело против CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления предусматривается способ выбора пациента для комбинированной терапии антителом против CSF1R и по меньшей мере одним иммуностимулирующим средством, таким как агонист CD40, включающий определение уровней TAM и/или CD8+ Т-клеток у пациента. В некоторых вариантах осуществления, если уровни TAM у пациента являются высокими, пациента выбирают для комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления, если уровни TAM и CD8+ Т-клеток у пациента являются высокими, пациента выбирают для комбинированной терапии. Уровень TAM или CD8+ Т-клеток считается "высоким", если он по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 75% или по меньшей мере на 100% превышает уровень у индивидуума, который не имеет злокачественную опухоль. В некоторых вариантах осуществления уровень TAM или CD8+ Т-клеток считается "высоким", если он превышает средний уровень, выявляемый у индивидуумов со злокачественной опухолью. В некоторых вариантах осуществления, если уровни TAM у пациента являются высокими и уровни CD8+ Т-клеток являются низкими, пациента выбирают для комбинированной терапии антителом против CSF1R и по меньшей мере одним иммуностимулирующим средством, таким как агонист CD40. Уровень CD8+ Т-клеток считается "низким", если он находится на уровне или ниже среднего уровня, выявляемого у индивидуумов со злокачественной опухолью. В некоторых вариантах осуществления уровень CD8+ Т-клеток считается "низким", если он по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 75% или по меньшей мере на 100% ниже, чем уровень у индивидуума, который не имеет злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления определения определяют экспрессию CSF1R на TAM пациента. В некоторых вариантах осуществления, если TAM пациента экспрессируют CSF1R, пациента выбирают для комбиниро-

ванной терапии. В некоторых вариантах осуществления, если TAM пациента экспрессируют повышенные уровни CSF1R, пациента выбирают для комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления TAM пациента считают экспрессирующими "повышенные" уровни CSF1R, если уровень CSF1R равен или превышает средний уровень экспрессируемого CSF1R, выявляемый на TAM у индивидуумов со злокачественной опухолью. В некоторых вариантах осуществления, если экспрессия CSF1R у пациента демонстрирует высокую корреляцию с уровнем CD8+ Т-клеток, пациента выбирают для комбинированной терапии. Корреляцию между уровнями экспрессии считают "высокой", если она равна или превышает средний уровень, выявляемый у индивидуумов со злокачественной опухолью.

Уровни TAM, экспрессии CSF1R, CD8+ Т-клеток и/или регуляторных Т-клеток можно измерять способами, известными в данной области. Иллюстративные способы включают иммуногистохимию (ИНС), сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), белковые чипы и анализы экспрессии генов, такие как секвенирование РНК, генные чипы и количественная ПЦР. В некоторых вариантах осуществления один или несколько маркеров, выбранных из CSF1R, CD68, CD163, CD8 и FoxP3, можно обнаруживать посредством ИНС, FACS или анализа экспрессии генов на срезах опухолей или диссоциированных клетках из срезов опухолей.

В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль выбрана из плоскоклеточного рака, мелкоклеточного рака легкого, рака гипофиза, рака пищевода, астроцитомы, саркомы мягких тканей, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого, плоскоклеточной карциномы легкого, злокачественной опухоли брюшины, печеночно-клеточного рака, желудочно-кишечного рака, рака поджелудочной железы, глиобластомы, рака шейки матки, рака яичника, рака печени, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, рака толстого кишечника, рака ободочной и прямой кишки, карциномы эндометрия или матки, карциномы слюнной железы, рака почки, ренального рака, рака печени, рака предстательной железы, рака женских наружных половых органов, рака щитовидной железы, карциномы печени, злокачественной опухоли головного мозга, рака эндометрия, рака яичка, холангиокарциномы, карциномы желчного пузыря, рака желудка, меланомы и различных типов рака головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого или плоскоклеточную карциному легкого. В некоторых вариантах осуществления лейкоз представляет собой острый миелоидный лейкоз или хронический лимфоцитарный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой инвазивную карциному молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак яичника представляет собой серозную цистаденокарциному яичника. В некоторых вариантах осуществления рак почки представляет собой светлоклеточную карциному почки. В некоторых вариантах осуществления рак толстого кишечника представляет собой аденокарциному толстого кишечника. В некоторых вариантах осуществления рак мочевого пузыря представляет собой уротелиальную карциному мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль выбрана из рака мочевого пузыря, рака шейки матки (такого как плоскоклеточный рак шейки матки), плоскоклеточной карциномы головы и шеи, аденокарциномы прямой кишки, немелкоклеточного рака легкого, рака эндометрия, аденокарциномы предстательной железы, рака толстого кишечника, рака яичника (такого как серозный эпителиальный рак яичника) и меланомы.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 и/или IL-34 с CSF1R и/или ингибирует фосфорилирование CSF1R, индуцируемое CSF1 и/или IL-34. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 и IL-34 с CSF1R и/или ингибирует фосфорилирование CSF1R, индуцируемое CSF1 и/или IL-34. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR или вариабельные области антитела, выбранного из huAb1-huAb16, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR или вариабельные области huAb1.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист ингибитора активации Т-клеток, в то время как в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист стимулятора активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист CTLA4, LAG-3, галектина 1, галектина 9, CEACAM-1, BTLA, CD25, CD69, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM1, TIM3, TIM4, ILT4, IL-6, IL-10, TGF $\beta$ , VEGF, KIR, LAG-3, рецептора аденозина A2A, PI3K-дельта или IDO. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFN $\alpha$ , STING или агонист Toll-подобного рецептора, такой как агонист TLR2/4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с представителем семейства B7 мембраносвязанных белков, таким как B7-1, B7-2, B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с представителем семейства рецепторов TNF или костимулирующей или коингибиторной молекулой, связывающейся с представителем семейства рецепторов TNF, такой как CD40,

CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LT $\beta$ R, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGF/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNF $\beta$ , TNFR2, TNF $\alpha$ , 1 $\beta$ 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY или NGF $\beta$ . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое является антагонистом или ингибитором цитокина, который ингибирует активацию Т-клеток, такого как IL-6, IL-10, TGF $\beta$ , VEGF. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист цитокина, который стимулирует активацию Т-клеток, такого как IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и IFN $\alpha$ . В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист хемокина, такой как CXCR2, CXCR4, CCR2 или CCR4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антитело. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство может включать вакцину, такую как нацеленная на мезотелин вакцина или вакцина против злокачественной опухоли на основе ослабленных листерий, такая как CRS-207.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист CD40, например антитело против CD40. Неограничивающие иллюстративные антитела-агонисты CD40 включают CP-870.893 (Pfizer и VLST); дацетузимаб (Seattle Genetics); RO7009789 (Roche); ACD-1013 (Alligator Bioscience); SEA-CD40 (Seattle Genetics) и Chi Lob 7/4 (Univ. Southampton). В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой рекомбинантный CD40L.

#### Пути введения и носители

В различных вариантах осуществления антитела можно вводить *in vivo* различными путями, включая, но не ограничиваясь ими, пероральный, внутриартериальный, парентеральный, интраназальный, внутримышечный, внутрисердечный, внутрижелудочковый, интратрахеальный, буккальный, ректальный, внутрибрюшинный, внутрикожный, местный, трансдермальный и интратекальный, или в ином случае посредством имплантации или ингаляции. Рассматриваемые композиции можно составлять в препараты в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах; включая, но не ограничиваясь ими, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, клизмы, инъекционные формы, ингаляционные формы и аэрозоли. Молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело, можно наносить на золотые микрочастицы и доставлять внутрикожно с использованием устройства для бомбардировки микрочастицами или "генной пушки", как описано в литературе (см., например, Tang et al., Nature 356:152-154 (1992)). Соответствующий состав и путь введения может быть выбран в зависимости от предполагаемого применения.

В различных вариантах осуществления композиции, содержащие антитела, предоставляют в составах с широким множеством фармацевтически приемлемых носителей (см., например, Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20<sup>th</sup> ed. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7<sup>th</sup> ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3<sup>rd</sup> ed., Pharmaceutical Press (2000)). Являются доступными различные фармацевтически приемлемые носители, которые включают наполнители, адъюванты и разбавители. Более того, также являются доступными различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, такие как Ph-корректирующие и буферные средства, средства для коррекции тоничности, стабилизаторы, смачивающие вещества и т.п. Неограничивающие иллюстративные носители включают солевой раствор, забуференный солевой раствор, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации.

В различных вариантах осуществления композиции, содержащие антитела, можно составлять для инъекции, в том числе для подкожного введения, путем растворения, суспендирования или эмульгирования их в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие масла, синтетические глицериды алифатических кислот, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; и, если желательно, с общепринятыми добавками, такими как солюбилизаторы, обеспечивающие изотоничность средства, суспендирующие вещества, эмульгаторы, стабилизаторы и консерванты. В различных вариантах осуществления композиции можно составлять для ингаляции, например, с использованием находящихся под давлением приемлемых пропеллентов, таких как дихлордифторметан, пропан, азот и т.п. В различных вариантах осуществления композиции также можно составлять в виде микрокапсул с замедленным высвобождением, как например, с биodeградируемыми или небиodeградируемыми полимерами. Неограничивающий иллюстративный биodeградируемый состав включает полимер молочная кислота-гликолевая кислота. Неограничивающий иллюстративный небиodeградируемый состав включает полимер сложного эфира глицерина и жирной кислоты. Определенные способы получения таких составов описаны, например, в EP 1125584 A1.

Также предусматриваются фармацевтические упаковки и наборы, содержащие один или несколько контейнеров, каждый из которых содержит одну или несколько доз антитела или комбинации антител. В некоторых вариантах осуществления предусматривается единичная дозировка, где единичная дозировка

содержит заданное количество композиции, содержащей антитело или комбинацию антител с одним или несколькими дополнительными средствами или без них. В некоторых вариантах осуществления такую единичную дозировку предоставляют в одноразовом предварительно заполненном шприце для инъекций. В различных вариантах осуществления композиция, содержащаяся в единичной дозировке, может содержать солевой раствор, сахарозу и т.п.; буфер, такой как фосфат и т.п.; и/или может быть составлена в стабильном и эффективном диапазоне Ph. Альтернативно в некоторых вариантах осуществления композиция может быть предоставлена в качестве лиофилизированного порошка, который может быть восстановлен добавлением соответствующей жидкости, например стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит одно или несколько веществ, которые ингибируют агрегацию белка, включая, но не ограничиваясь ими, сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиции по изобретению содержит гепарин и/или протеогликан.

Фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения или профилактики конкретного показания. Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от массы индивидуума, подвергаемого лечению, его или ее физического состояния или состояния здоровья, степени выраженности состояния, подвергаемого лечению, или возраста индивидуума, подвергаемого лечению. Как правило, антитела можно вводить в количестве, находящемся в диапазоне от приблизительно 10 мкг/кг массы тела до приблизительно 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 50 мкг/кг массы тела до приблизительно 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 0,5 мг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу.

Композиции антител можно вводить индивидуумам при необходимости. Определение частоты введения могут проводить специалисты в данной области, такие как лечащий врач, с учетом состояния, подвергаемого лечению, возраста индивидуума, подвергаемого лечению, тяжести состояния, подвергаемого лечению, общего состояния здоровья индивидуума, подвергаемого лечению, и т.п. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят индивидууму один или несколько раз. В различных вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят индивидууму один раз в месяц, менее одного раза в месяц, например раз в два месяца или раз в три месяца. В других вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят более одного раза в месяц, например каждые три недели, каждые две недели или каждую неделю. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят один раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят два раза или три раза в неделю. Эффективную дозу антитела вводят индивидууму по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела можно вводить несколько раз, в том числе в течение периодов, составляющих по меньшей мере месяц, по меньшей мере шесть месяцев или по меньшей мере год.

#### Дополнительная комбинированная терапия

Описанные выше терапевтические комбинации можно вводить отдельно или с другими способами лечения. Их можно предоставлять до, по существу одновременно или после других способов лечения, например, хирургической операции, химиотерапии, лучевой терапии или введения биологического средства, такого как другое терапевтическое антитело. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль рецидивирует или прогрессирует после терапии, выбранной из хирургической операции, химиотерапии и лучевой терапии или их комбинации.

Для лечения злокачественной опухоли комбинации можно вводить совместно с одним или несколькими дополнительными средствами против злокачественной опухоли, такими как химиотерапевтическое средство, ингибирующее рост средство, вакцина против злокачественной опухоли, такая как вакцина для генной терапии, антиангиогенное средство и/или антинеопластическая композиция. Неограничивающие примеры химиотерапевтического средства, ингибирующего рост средства, вакцины против злокачественной опухоли, антиангиогенного средства и антинеопластической композиции, которые могут использоваться в комбинации с антителами по настоящему изобретению, предоставлены в настоящем описании в разделе "Определения".

В некоторых вариантах осуществления с комбинацией противовоспалительное лекарственное средство, такое как стероидное или нестероидное противовоспалительное средство (NSAID).

#### Примеры

Примеры, описанные ниже, предназначены исключительно для иллюстрации изобретения, и их не следует считать ограничивающими изобретение каким-либо образом. Примеры не отражают, что описанные ниже эксперименты представляют собой все и единственные проведенные эксперименты. Были сделаны усилия для того, чтобы убедиться в точности используемых количеств (например, количества, температура и т.д.), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если нет иных указаний, части представляют собой части по массе, молекулярная масса представляет со-



бой средневзвешенную молекулярную массу, температура приведена в градусах Цельсия и давление является атмосферным или близким к атмосферному.

Пример 1. Гуманизированные антитела против CSF1R.

Различные гуманизированные антитела против CSF1R были разработаны ранее. См., например, публикацию PCT № WO 2011/140249.

Последовательности для всех из гуманизированных переменных областей тяжелой цепи и гуманизированных переменных областей легкой цепи, выровненные с последовательностями родительских переменных областей химерного антитела и последовательностями акцепторных переменных каркасных областей человека, представлены на фиг. 1 (тяжелые цепи) и 2 (легкие цепи). Изменения в гуманизированных последовательностях переменной области относительно последовательностей акцепторной переменной каркасной области заключены в рамки. Каждая из CDR для каждой из переменных областей показана в заключенной в рамку области и обозначена как "CDR" над заключенными в рамку последовательностями.

В табл. 8 ниже показаны полные последовательности для гуманизированных тяжелых цепей и гуманизированных легких цепей антител huAb1-huAb16. Название и SEQ ID NO: гуманизированной тяжелой цепи и гуманизированной легкой цепи каждого из этих антител представлены в табл. 3.

Таблица 3. Гуманизированные тяжелые цепи и легкие цепи huAb1-huAb16.

| Гуманизированное антитело | Гуманизированная HC | SEQ ID NO | Гуманизированная LC | SEQ ID NO |
|---------------------------|---------------------|-----------|---------------------|-----------|
| huAb1                     | h0301-H0            | 53        | h0301-L0            | 60        |
| huAb2                     | h0301-H1            | 54        | h0301-L0            | 60        |
| huAb3                     | h0301-H2            | 55        | h0301-L0            | 60        |
| huAb4                     | h0301-H0            | 53        | h0301-L1            | 61        |
| huAb5                     | h0301-H1            | 54        | h0301-L1            | 61        |
| huAb6                     | h0301-H2            | 55        | h0301-L1            | 61        |
| huAb7                     | h0302-H1            | 56        | h0302-L0            | 62        |
| huAb8                     | h0302-H1            | 56        | h0302-L1            | 63        |
| huAb9                     | h0302-H1            | 56        | h0302-L2            | 64        |
| huAb10                    | h0302-H2            | 57        | h0302-L0            | 62        |
| huAb11                    | h0302-H2            | 57        | h0302-L1            | 63        |
| huAb12                    | h0302-H2            | 57        | h0302-L2            | 64        |
| huAb13                    | h0311-H1            | 58        | h0311-L0            | 65        |
| huAb14                    | h0311-H1            | 58        | h0311-L1            | 66        |
| huAb15                    | h0311-H2            | 59        | h0311-L0            | 65        |
| huAb16                    | h0311-H2            | 59        | h0311-L1            | 66        |

16 гуманизированных антител исследовали в отношении связывания с ECD CSF1R человека, яванского макака и мыши, как описано ранее. См., например, публикацию PCT № WO 2011/140249. Было обнаружено, что антитела связываются ECD CSF1R как человека, так и яванского макака, но не с ECD CSF1R мыши. Также было обнаружено, что гуманизированные антитела блокируют связывание CSF1 и IL-34 с CSF1R как человека, так и яванского макака, и ингибируют индуцируемое CSF1 и индуцируемое IL-34 фосфорилирование CSF1R человека, экспрессируемого в клетках CHO. См., например, публикацию PCT № WO 2011/140249.

$K_a$ ,  $k_d$  и  $K_D$  для связывания с ECD CSF1R человека определены ранее и представлены в табл. 4. См., например, публикацию PCT № WO 2011/140249.

Таблица 4. Аффинность связывания гуманизированного антитела с CSF1R человека

| huAb           | $k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ ) | $k_d$ ( $s^{-1}$ )     | $K_D$ (нМ) |
|----------------|--------------------------|------------------------|------------|
| huAb 0301-L0H0 | $3,22 \times 10^6$       | $1,11 \times 10^{-03}$ | 0,35       |

|                |                      |                        |      |
|----------------|----------------------|------------------------|------|
| huAb 0301-L0H1 | 3,56×10 <sup>6</sup> | 1,22×10 <sup>-03</sup> | 0,34 |
| huAb 0301-L0H2 | 2,32×10 <sup>6</sup> | 6,60×10 <sup>-04</sup> | 0,28 |
| huAb 0301-L1H0 | 3,29×10 <sup>6</sup> | 1,15×10 <sup>-03</sup> | 0,35 |
| huAb 0301-L1H1 | 2,87×10 <sup>6</sup> | 9,21×10 <sup>-04</sup> | 0,32 |
| huAb 0301-L1H2 | 2,95×10 <sup>6</sup> | 7,42×10 <sup>-04</sup> | 0,25 |
| huAb 0302-L0H1 | 3,54×10 <sup>6</sup> | 3,69×10 <sup>-03</sup> | 1,04 |
| huAb 0302-L1H1 | 3,47×10 <sup>6</sup> | 4,04×10 <sup>-03</sup> | 1,17 |
| huAb 0302-L2H1 | 1,60×10 <sup>6</sup> | 9,14×10 <sup>-04</sup> | 0,57 |
| huAb 0302-L0H2 | 3,40×10 <sup>6</sup> | 1,79×10 <sup>-03</sup> | 0,53 |
| huAb 0302-L1H2 | 2,71×10 <sup>6</sup> | 1,53×10 <sup>-03</sup> | 0,56 |
| huAb 0302-L2H2 | 1,84×10 <sup>6</sup> | 8,40×10 <sup>-04</sup> | 0,46 |
| huAb 0311-L0H1 | 1,22×10 <sup>6</sup> | 5,40×10 <sup>-04</sup> | 0,44 |
| huAb 0311-L1H1 | 1,32×10 <sup>6</sup> | 6,64×10 <sup>-04</sup> | 0,50 |
| huAb 0311-L0H2 | 1,34×10 <sup>6</sup> | 4,73×10 <sup>-04</sup> | 0,35 |
| huAb 0311-L1H2 | 1,51×10 <sup>6</sup> | 6,09×10 <sup>-04</sup> | 0,40 |

Пример 2. Усиление противоопухолевой активности с использованием комбинированной терапии.

Самок мышей C57BL/6 в возрасте 6-8 недель содержали по 5 животных на клетку с доступом к корму и воде без ограничений. После поступления в виварий мыши акклиматизировались в течение по меньшей мере 3 суток. Мышей взвешивали и их бока брили перед инокуляцией опухолевой клеточной линии.

Клеточную линию аденокарциномы толстого кишечника мыши MC38 культивируют в RPMI+10% FBS+2 mM L-глутамин+антибиотик/противогрибковое средство при 37°C с 5% CO<sub>2</sub>. Клетки суспендируют в растворе 50%/об. DPBS и 50%/об. матригеля в концентрации 5 млн клеток/мл. 100 мкл раствора с клетками (0,5 млн клеток) имплантируют в правый блок каждой мыши с использованием иглы 27G1/2. Оседание клеток на дно пробирки предотвращают с использованием иглы 18G и шприца и посредством слабого встряхивания. Мышей подвергают анестезии с использованием изофлурана и для обеспечения более точной имплантации опухолевых клеток. Длину (L) и ширину (W) каждой опухоли измеряют с использованием электронного толщиномера и объем (V) опухоли вычисляют с использованием  $V=(L \times W^2)/2$ . После достижения среднего объема опухоли приблизительно 105 мм<sup>3</sup>, мышей распределяют на группы и им проводят дозирование, как рассмотрено ниже.

#### Группы и дозирование

Мышей распределяют на следующие группы и вводят химерное антитело крысы против CSF1R мыши (IgG1 мыши, обозначаемое как "cmFPA008") и/или антитело против CD40 FGK45 (Bio X Cell; см. Rolink et al., 1996, Immunity 5:319-330) по схемам дозирования, описанным ниже.

Контроль: IgG мыши, 30 мг/кг, в/б 1x/wk, начиная на 0 сутки. IgG крысы, 100 мкг в/б на 0 сутки.

huAb1: антитело против CSF1R, 30 мг/кг, в/б. 1x/wk, начиная на 0 сутки. IgG крысы, 100 мкг в/б на 0 сутки.

Антитело против CD40 (высокая): антитело против CD40, 100 мкг в/б на 0 сутки. IgG мыши, 30 мг/кг, в/б, 1x/wk, начиная на 0 сутки.

Комбинация (высокая): антитело против CSF1R, 30 мг/кг, в/б, 1x/wk, начиная на 0 сутки, антитело против CD40, 100 мкг в/б на 0 сутки.

Антитело против CD40 (низкая): антитело против CD40, 30 мкг, в/б на 0 сутки. IgG мыши, 30 мг/кг, в/б, 1x/wk, начиная на 0 сутки.

Комбинация (низкая): антитело против CSF1R, 30 мг/кг, в/б, 1x/wk, начиная на 0 сутки, антитело против CD40, 30 мкг в/б на 0 сутки.

Схема дозирования и распределение на группы показаны ниже в табл. 5.

Таблица 5. Дозирование и распределение на группы в исследовании

| Группа | Лечение #1: химерное Ab1 | Дозирование (мг/кг, схема) | Лечение #2: антитело против CD40 | Дозирование (мг/кг, схема) | Мыши (n) |
|--------|--------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------|----------|
| 1      | IgG мыши                 | 30, 1x в неделю (qw)       | IgG крысы                        | 100 мкг на 0 сутки         | 10       |
| 2      | Антитело против CSF1R    |                            |                                  |                            | 10       |
| 3      | IgG мыши                 |                            | Антитело против CD40             | 100 мкг на 0 сутки         | 10       |
| 4      | Антитело против CSF1R    |                            |                                  |                            | 10       |
| 5      | IgG мыши                 |                            |                                  | 30 мкг на 0 сутки          | 10       |
| 6      | Антитело против CSF1R    |                            |                                  |                            | 10       |

Животных умерщвляют перед окончанием исследования, если наблюдают любые из следующих признаков:

снижение массы тела, равное или превышающее 15% от первоначальной массы тела;

наблюдают изъязвление опухоли;

мышы выглядят умирающими;

индивидуальный объем опухоли равен или превышает 10% от первоначальной массы тела.

Проводят взятие плазмы для фармакокинетического (ПК) анализа. В последний день исследования проводят взятие цельной крови посредством внутрикardиального отбора и выделяют плазму для анализа ПК (биоаналитическая группа). По меньшей мере пять (5) опухолей из каждой группы собирают для следующего анализа. Изоляты единичных клеток опухолей получают посредством обработки коллагеназой и FACS используют для исследования инфильтрации иммунных клеток в опухоль(и). Срезы опухолей также быстро замораживают в жидком азоте и хранят при -80°C для экстракции белка и мРНК. Срезы опухоли заливают соединением Optimum Cutting Temperature (OCT) и хранят при -80°C. Срезы опухолей также помещают в 10% забуференный формалин на ночь, а затем переносят в 70% этанол на следующие сутки.

Результаты этого эксперимента представлены на фиг. 3 и 4. Как показано на фиг. 3, комбинация антитела против CSF1R и антитела против CD40 (высокая) приводила к ранней регрессии опухоли с последующим стазом опухоли. Комбинация антитела против CSF1R и антитела против CD40 (низкая) также продемонстрировала более высокую эффективность, чем любой из способов лечения отдельно. На фиг. 4 показаны индивидуальные объемы опухолей на (A) 11 сутки и (B) 13 сутки. В таблице 6 показана статистика объема опухоли на 11 сутки и 13 сутки с использованием одностороннего ANOVA. Комбинация антитела против CSF1R и антитела против CD40 (высокая) продемонстрировала значительно лучшую эффективность, чем любой из способов лечения отдельно.

Таблица 6. Статистика объема опухоли

| Группа  | 11 сутки         |       |              | 13 сутки         |       |            |
|---|------------------|-------|--------------|------------------|-------|------------|
|   | Средний<br>TV±SD | %TGI  | Значение p   | Средний<br>TV±SD | %TGI  | Значение p |
| IgG/IgG   | 729,3 ±<br>183,8 | 0,00  | -            | 942,4 ±<br>278,3 | 0,00  | -          |
| Антитело<br>против CSF1R<br>/IgG против<br>комбинации<br>(низкая)             | 579,2 ±<br>87,87 | 20,58 | 0,0037       | 710,0 ±<br>80,05 | 24,66 | 0,0004     |
| IgG/антитело<br>против CD40<br>(низкая)<br>против<br>комбинации<br>(низкая)   | 452,5 ±<br>111,9 | 37,95 | 0,5888<br>ns | 645,2 ±<br>162,0 | 31,53 | 0,0139     |
| IgG/антитело<br>против CD40<br>(высокая)<br>против<br>комбинации<br>(высокая) | 450,8 ±<br>105,6 | 38,18 | < 0,0001     | 650,6 ±<br>151,5 | 30,96 | < 0,0001   |
| Комбинация<br>(высокая)<br>против<br>антитела<br>против<br>CSF1R/IgG          | 157,4 ±<br>55,00 | 78,41 | < 0,0001     | 223,3 ±<br>98,32 | 76,31 | < 0,0001   |

На фиг. 5 показана масса тела для всех животных в исследовании, измеряемая по меньшей мере два раза в неделю. Ни для одной из группы не наблюдали значимых отличий массы относительно контроля.

#### Таблица последовательностей

В табл. 10 представлены определенные последовательности, описанные в настоящем описании. Все последовательности полипептидов и антител показаны без лидерных последовательностей, если нет иных указаний.

Таблица 10. Последовательности и описания

| SEQ ID NO                                    | Описание   | Последовательность                           |
|--|--|--|
| 1  | hCSF1R<br>(полнораз-<br>мерная,<br>без<br>лидерной<br>последова-<br>тельности) | IPVIEPSVPE LVVKPGATVT LRCVGNNGSVE WDGPPSPHWT |
|  |  | LYSDGSSSIL STNNATFQNT GTYRCTEPGD PLGGSAAIHL  |
|  |  | YVKDPARPWN VLAQEVVVEFE DQDALLPCLL TDPVLEAGVS |
|  |  | LVRVRGRPLM RHTNYSFSPW HGFTIHRAKF IQSQDYQCSA  |
|  |  | LMGGRKVMISI SIRLKVQKVI PGPPALTLVP AELVRIRGEA |
|  |  | AQIVCSASSV DVNFDVFLQH NNTKLAIPQQ SDFHNNRYQK  |
|  |  | VLTLNLDQVD FQHAGNYSCV ASNVQGKHST SMFFRVVESA  |
|  |  | YLNLSSEQNL IQEVTVGEGL NLKVMVEAYP GLQGFNWTYL  |
|  |  | GPFSDHQPEP KLANATTKDT YRHTFTLSLP RLKPSEAGRY  |
|  |  | SFLARNPGGW RALTFELTLR YPPEVSVIWT FINGSGTLLC  |
|  |  | AASGYQPQNV TWLQCSGHTD RCDEAQVLQV WDDPYPEVLS  |
|  |  | QEPFHKVTVQ SLLTVETLEH NQTYECRAHN SVGSGSWAFI  |
|  |  | PISAGANTHP pDEFLFTPVV VACMSIMALL LLLLLLLLLYK |
|  |  | YKQKPKYQVR WKIIESYEGN SYTFIDPTQL PYNEKWEFPR  |
|  |  | NNLQFGKTLG AGAFGKVVEA TAFGLGKEDA VLKVAVKMLK  |
|  |  | STAHADKEEA LMSELKIMSH LGQHENIVNL LGACTHGGPV  |
|  |  | LVITEYCCYG DLLNFLRRKA EAMLGPSLSLSP GQDPEGVDY |
|  |  | KNIHLEKKYV RRDSGFSSQG VDTYVEMRPV STSSNDSFSE  |
|  |  | QDLKEDGRP LELRDLLHFS SQVAQGMAFL ASKNCIHRDV   |
|  |  | AARNVLLTNG HVAKIGDFGL ARDIMNDSNY IVKGNARLPV  |
| KWMAPE SIFD CVYTVQSDVW SYGILLWEIF SLGLNPYPGI |  |  |
| LVNSKFYKLV KDGYPMAQPA FAPKNIYSIM QACWALEPTH  |  |  |

|   |   |   |
|---|---|---|
|   |   | RPTFQQICSF LQEQAQEDRR ERDYTNLPSS SRSGGSGSSS<br>SELEEESSSE HLTCCCEQGDI AQPLLQPNNY QFC  |
| 2 | hCSF1R<br>(полно-<br>размерная+<br>лидерная<br>последова-<br>тельность) | MGPGVLLLLL VATAWHGQGI PVIEPSVPEL VVKPGATVTL<br>RCVGNGSVEW DGPPSPHWT YSDGSSSILS TNNATFQNTG<br>TYRCTEPGDP LGGSAAIHLV VKDPPARPWNV LAQEVVVFED<br>QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VVRVGRPLMR HTNYSFSPWH<br>GFTIHRAKFI QSQDYQCSAL MGGRKVMSSS IRLKVQKVIP<br>GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASSVD VNFVDVFLQHN<br>NTKLAI PQQS DFHNNRYQKV LTLNLDQVDF QHAGNYSCVA<br>SNVQGHSTSS MFFRVVESAY LNLSSSEQNLI QEVTVGEGLN<br>LKMVVEAYPG LQGFNWTYLG PFSHQPEPK LANATTKDITY<br>RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPPGWR ALTFELTLRY<br>PPEVSVIWF INGSGTLLCA ASGYPPQNVTL WLQCSGHTDR<br>CDEAQVLQVW DDPYPEVLSQ EPFHKVTVQS LLTVETLEHN<br>QTYECRAHNS VGSGSWAFIP ISAGAHTHP DEFLEFTPVVV<br>ACMSIMALLL LLLLLLLYKY KQKPKYQVRW KIIESYEGNS<br>YTFIDPTQLP YNEKWEFPRN NLQFGKTLGA GAFGKVVVEAT<br>AFGLGKEDAV LKVAVKMLKS TAHADKEAL MSELKIMSHL<br>GQHENIVNLL GACTHGGPVL VITEYCCYGD LLNFLRRKAE<br>AMLGPSLSPG QDPEGGVDYK NIHLEKKYVR RDSGFSSQGV<br>DTYVEMRPVS TSSNDSFSEQ DLDKEDGRPL ELRDLLHFSS<br>QVAQGMFLA SKNCIHRDVA ARNVLLTNGH VAKIGDFGLA<br>RDIMNDSNYI VKGNARLPVK WMAPESIFDC VYTVQSDVWS<br>YGILLWEIFS LGLNPYPGIL VNSKFYKLVK DGYQMAQPAF<br>APKNIYSIMQ ACWALEPTHR PTFQQICSF LQEQAQEDRRE<br>RDYTNLPSSS SRSGGSGSSS ELEEESSSEH LTCCEQGDIA<br>QPLLQPNNYQ FC |
| 5 | hCSF1R<br>ECD.506   | IPVIEPSVPE LVVKPGATVT LRCVGNGSVE WDGPPSPHWT<br>LYSDGSSSIL STNNATFQNT GTYRCTEPGD PLGGSAAIHL<br>YVKDPPARPWN VLAQEVVVFED QDALLPCLL TDPVLEAGVS<br>LVRVGRPLM RHTNYSFSPW HGFTIHRAKF IQSQDYQCSA<br>LMGGRKVMSSS IRLKVQKVI PGPPALTLVP AELVRIRGEA<br>AQIVCSASSV DVNFVDVFLQH NNTKLAI PQQS SDFHNNRYQK<br>VTLNLDQVD FQHAGNYSCV ASNVQGHST SMFFRVVESA<br>YLNLSSEQNL IQEVTVGEGL NLKMVVEAYP GLQGFNWTYL   |

|   |  |  |
|---|--|--|
|   |  | <p>           GPFSDHQPEP KLANATTKDT YRHTFTLSLP RLPSEAGRY<br/>           SFLARNPGGW RALTFELTLR YPPEVSVIWT FINGSGTLLC<br/>           AASGYQPQNV TWLQCSGHTD RCDEAQVLQV WDDPYPEVLS<br/>           QEPFHKVTVQ SLLTVETLEH NQTYECRAHN SVGSGSWAFI<br/>           PISAGAH         </p>  |
| 6 | hCSF1R<br>ECD.506-Fc   | <p>           IPVIEPSVPE LVVKPGATVT LRCVGNVSVE WDGPPSPHWT<br/>           LYSDGSSSIL STNNATFQNT GTYRCTEPGD PLGGSAAIHL<br/>           YVKDPAWPWN VLAQEVVFE DQDALLPCLL TDPVLEAGVS<br/>           LVRVRGRPLM RHTNYSFSPW HGFTIHRAKF IQSQDYQCSA<br/>           LMGGRKVMISI SIRLKVQKVI PGPPALTLVP AELVRIRGEA<br/>           AQIVCSASSV DVNFDVFLQH NNTKLAIPQQ SDFHNNRYQK<br/>           VLTLNLDQVD FQHAGNYSCV ASNVQGKHST SMFFRVVESA<br/>           YLNLSSSEQNL IQEVTVGEGL NLKVMVEAYP GLQGFNWTYL<br/>           GPFSDHQPEP KLANATTKDT YRHTFTLSLP RLPSEAGRY<br/>           SFLARNPGGW RALTFELTLR YPPEVSVIWT FINGSGTLLC<br/>           AASGYQPQNV TWLQCSGHTD RCDEAQVLQV WDDPYPEVLS<br/>           QEPFHKVTVQ SLLTVETLEH NQTYECRAHN SVGSGSWAFI<br/>           PISAGAHEPK SSDKTHTCP CPAPPELLGGP SVFLFPPKPK<br/>           DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK<br/>           TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL<br/>           PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL<br/>           VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS<br/>           KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK         </p> |
| 7 | сyноCSF1R<br>ECD (с<br>лидерной<br>последова-<br>тельностью<br>) | <p>           MGPGVLLLLL VVTAWHGQGI PVIEPSGPEL VVKPGETVTL<br/>           RCVGNVSVEW DGPISPHWTL YSDGPSSVLT TTNATFQNTR<br/>           TYRCTEPGDP LGGSAAIHLV VKDPAWPWNV LAKEVVVFED<br/>           QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VRLRGRPLLR HTNYSFSPWH<br/>           GFTIHRAKFI QGQDYQCSAL MGSRKVMSIS IRLKVQKVIP<br/>           GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASNID VDFDVFLQHN<br/>           TTKLAIPQRS DFHDNRYQKV LTLSLGQVDF QHAGNYSCVA<br/>           SNVQGKHSTS MFFRVVESAY LDLSSEQNLI QEVTVGEGLN<br/>           LKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFSHDHQPEPK LANATTKDITY<br/>           RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTLRY<br/>           PPEVSVIWTS INSGTLLCA ASGYQPQNVTL WLQCAGHTDR         </p>   |

|   |   |   |
|---|---|---|
|   |   | CDEAQVLQVW VDPHPEVLSQ EPFQKVTVQS LLTAETLEHN<br>QTYECRAHNS VGSGSWAFIP ISAGAR   |
| 8 | сyноCSF1R<br>ECD-Fc (с<br>лидерной<br>последова-<br>тельностью<br>) | MGPGVLLLLL VVTAWHGQGI PVIEPSGPEL VVKPGETVTL<br>RCVGNCSVEW DGPISPHWTL YSDGPSSVLT TTNATFQNTR<br>TYRCTEPGDP LGGSAAIHLY VKDPAWPWNV LAKEVVVFED<br>QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VRLRGRPLLR HTNYSFSPWH<br>GFTIHRAKFI QGQDYQCSAL MGSRKVMSIS IRLKVQKVIP<br>GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASNID VDFDVFLOHN<br>TTKLAI PQRS DFHDNRYQKV LTLSLQVDF QHAGNYSCVA<br>SNVQGKHSTS MFFRVVESAY LDLSSEQNLI QEVTVGEGLN<br>LKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFS DHQPEPK LANATTKD TY<br>RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTRY<br>PPEVSVI WTS INSGTLLCA ASGYQPNT WLQCAGHTDR<br>CDEAQVLQVW VDPHPEVLSQ EPFQKVTVQS LLTAETLEHN<br>QTYECRAHNS VGSGSWAFIP ISAGARGSEP KSSDKTHTCP<br>PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS<br>HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT<br>VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ<br>VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP<br>ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV<br>MHEALHNHYT QKSLSLSPGK |
| 3 | Лидерная<br>последова-<br>тельность<br>легкой<br>цепи               | METDTLLLWV LLLWVPGSTG   |
| 4 | Лидерная<br>последова-<br>тельность<br>тяжелой<br>цепи              | MAVLGLLLCL VTFPSCVLS  |
| 9 | Вариабельн<br>ая область<br>тяжелой<br>цепи Fab                     | EVQLQQSGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFT DNYMIWVKQS<br>HGKSLEWIGD INPYNGGTF NQKFKGKATL TVEKSSSTAY<br>MQLNSLTSED SAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTSTV SS  |



|    |  |  |
|----|--|--|
|    | 0301                                       |  |
| 10 | Вариабельная область легкой цепи Fab 0301  | NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGDNYMNWY<br>QOKPGQPPKL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH<br>PVEEEDAATY YCHLSNEDLS TFGGGTKLEI K             |
| 11 | Вариабельная область тяжелой цепи Fab 0302 | EIQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFS DFNIHWVKQK<br>PGQGLEWIGY INPYTDVTY NEKFKGKATL TSDRSSSTAY<br>MDLSSLTSED SAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQTSITVS S    |
| 12 | Вариабельная область легкой цепи Fab 0302  | DVVVTQTPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD NYGLSEFMNWF<br>QOKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGGG SRTDFTLTID<br>PVEADDAATY FCQQSKELPW TFGGGTRLEI K            |
| 13 | Вариабельная область тяжелой цепи Fab 0311 | EIQLQQSGPD LMKPGASVKM SCKASGYIFT DYNMHWVKQN<br>QOKSLEWMGE INPNNGVVY NQKFKGTTTL TVDKSSSTAY<br>MDLHSLTSED SAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGKGTTTLTV SS |
| 14 | Вариабельная область легкой цепи Fab 0311  | DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGDHNMNWF<br>QOKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIH<br>PVEEEDAATY YCQQGNEDPW TFGGGTRLEI K             |
| 15 | CDR1 тяжелой цепи 0301                     | GYTFTDNYMI   |
| 16 | CDR2 тяжелой цепи 0301                     | DINPYNGGTT FNQKFKG   |
| 17 | CDR3 тяжелой цепи 0301                     | ESPYFSNLYV MDY   |

|    |                              |                    |
|----|------------------------------|--------------------|
| 18 | CDR1<br>легкой<br>цепи 0301  | KASQSVDYDG DNYMN   |
| 19 | CDR2<br>легкой<br>цепи 0301  | AASNLES            |
| 20 | CDR3<br>легкой<br>цепи 0301  | HLSNEDLST          |
| 21 | CDR1<br>тяжелой<br>цепи 0302 | GYTFSDFNH          |
| 22 | CDR2<br>тяжелой<br>цепи 0302 | YINPYTDVTV YNEKFKG |
| 23 | CDR3<br>тяжелой<br>цепи 0302 | YFDGTFDYAL DY      |
| 24 | CDR1<br>легкой<br>цепи 0302  | RASESVDNYG LSFMN   |
| 25 | CDR2<br>легкой<br>цепи 0302  | TASNLES            |
| 26 | CDR3<br>легкой<br>цепи 0302  | QQSKELPWT          |
| 27 | CDR1<br>тяжелой<br>цепи 0311 | GYIFTDYNMH         |
| 28 | CDR2<br>тяжелой<br>цепи 0311 | EINPNNGVVV YNQKFKG |
| 29 | CDR3<br>тяжелой              | ALYHSNFGWY FDS     |

|    |                             |  |
|----|-----------------------------|--|
|    | цепи 0311                   |  |
| 30 | CDR1<br>легкой<br>цепи 0311 | KASQSVDDYDG DSHMN  |
| 31 | CDR2<br>легкой<br>цепи 0311 | TASNLES  |
| 32 | CDR3<br>легкой<br>цепи 0311 | QQGNEDPWT  |
| 33 | Тяжелая<br>цепь cAb<br>0301 | EVQLQQSGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFT DNYMIWVKQS<br>HGKSLEWIGD INPYNGGTF NQKFKGKATL TVEKSSSTAY<br>MQLNSLTSED SAVYYCARES PYFSNLYVMD YWQGTSVTV<br>SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT<br>VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT<br>KTYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP<br>SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY<br>VDGVFVHNAK TKPREFQFNS TYRVVSVI.TV I.HQDWI.NGKF<br>YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM<br>TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL<br>DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ<br>KSLSLSLGK |
| 34 | Легкая<br>цепь cAb<br>0301  | NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGDNYMNWY<br>QQKPGQPPKL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH<br>PVEEEDAATY YCHLSNEDLS TFGGGTKLEI KRTVAAPSVF<br>IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS<br>GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV<br>THQGLSSPVT KSFNRGEC  |
| 35 | Тяжелая<br>цепь cAb<br>0302 | EIQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFS DFNIHWVKQK<br>PGQGLEWIGY INPYTDVTVY NEKFKGKATL TSDRSSSTAY<br>MDLSSLTSED SAVYYCASYF DGTFDYALDY WQGTSITVS<br>SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV<br>SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK<br>TYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGPS<br>VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV   |

|    |   |   |
|----|---|---|
|    |   | DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY<br>KCKVSNKGLP SSIIEKTISKA KGQPREPQVY TLPSPQEEMT<br>KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD<br>SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK<br>SLSLSLGK   |
| 36 | Легкая<br>цепь cAb<br>0302                              | DVVVTQTPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD NYGLSEFMNWF<br>QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGGG SRTDFTLTID<br>PVEADDAATY FCQQSKELPW TFGGGTRLEI KRTVAAPSVF<br>IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS<br>GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV<br>THQGLSSPVT KSFNRGEC  |
| 37 | Тяжелая<br>цепь cAb<br>0311                             | EIQLQQSGPD LMKPGASVKM SCKASGYIFT DYNMHWVKQN<br>QGKSLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTTL TVDKSSSTAY<br>MDLHSLTSED SAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGKGTTTLTV<br>SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT<br>VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT<br>KTYTCNVNDHK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP<br>SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY<br>VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE<br>YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM<br>TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL<br>DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ<br>KSLSLSLGK |
| 38 | Легкая<br>цепь cAb<br>0311                              | DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGDSHMNWY<br>QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIH<br>PVEEEDAATY YCQQGNEDPW TFGGGTRLEI KRTVAAPSVF<br>IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS<br>GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV<br>THQGLSSPVT KSFNRGEC   |
| 39 | Вариабельн<br>ая область<br>тяжелой<br>цепи<br>h0301-H0 | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA<br>PGQGLEWMGD INPYNGGTF NQKFKGRVTI TADKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTLLTV SS   |
| 40 | Вариабельн  | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA   |

|    |   |  |
|----|---|--|
|    | ая область<br>тяжелой<br>цепи<br>h0301-H1               | PGQGLEWMGD INPYNGGTF NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLTVTV SS   |
| 41 | Вариабельн<br>ая область<br>тяжелой<br>цепи<br>h0301-H2 | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA<br>PGQGLEWIGD INPYNGGTF NQKFKGRATL TVDKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLTVTV SS  |
| 42 | Вариабельн<br>ая область<br>тяжелой<br>цепи<br>H0302-H1 | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFS DFNIHWVRQA<br>PGQGLEWMGY INPYTDVTYVY NEKFKGRVTI TSDKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGLTVTVS S |
| 43 | Вариабельн<br>ая область<br>тяжелой<br>цепи<br>H0302-H2 | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFS DFNIHWVRQA<br>PGQGLEWIGY INPYTDVTYVY NEKFKGRATL TSDKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGLTVTVS S |
| 44 | Вариабельн<br>ая область<br>тяжелой<br>цепи<br>H0311-H1 | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA<br>PGQGLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGLTVTV SS |
| 45 | Вариабельн<br>ая область<br>тяжелой<br>цепи<br>H0311-H2 | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA<br>PGQGLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTTL TVDKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGLTVTV SS |
| 46 | Вариабельн<br>ая область<br>легкой<br>цепи<br>h0301-L0  | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LCKASQSVD YDGDNYMNWY<br>QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI K              |
| 47 | Вариабельн  | NIVLTQSPAT LSLSPGERAT LCKASQSVD YDGDNYMNWY   |

|    |  |  |
|----|--|--|
|    | ая область<br>легкой<br>цепи<br>h0301-L1               | QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI K  |
| 48 | Вариабельн<br>ая область<br>легкой<br>цепи<br>H0302-L0 | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSEFMNWy<br>QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K  |
| 49 | Вариабельн<br>ая область<br>легкой<br>цепи<br>H0302-L1 | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSEFMNWy<br>QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K  |
| 50 | Вариабельн<br>ая область<br>легкой<br>цепи<br>H0302-L2 | EIVVTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSEFMNWF<br>QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K  |
| 51 | Вариабельн<br>ая область<br>легкой<br>цепи<br>H0311-L0 | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDShMNWy<br>QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI K   |
| 52 | Вариабельн<br>ая область<br>легкой<br>цепи<br>H0311-L1 | DIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDShMNWy<br>QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI K   |
| 53 | Тяжелая<br>цепь<br>h0301-H0                            | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA<br>PGQGLEWMD INPYNGGTF NQKFKGRVTI TADKSTSTAY<br>MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWQGTLVTV<br>SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT<br>VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT<br>KTYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP |

|    |                             |            |            |            |            |
|----|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|
|    |                             | SVFLFPPKPK | DTLMISRTPE | VTCVVVDVSQ | EDPEVQFNWY |
|    |                             | VDGVEVHNAK | TKPREEQFNS | TYRVVSVLTV | LHQDWLNGKE |
|    |                             | YKCKVSNKGL | PSSIEKTISK | AKGQPREPQV | YTLPPSQEEM |
|    |                             | TKNQVSLTCL | VKGFYPSDIA | VEWESNGQPE | NNYKTTPPVL |
|    |                             | DSDGSFFLYS | RLTVDKSRWQ | EGNVFSCSVM | HEALHNHYTQ |
|    |                             | KSLSLSLGK  |            |            |            |
| 54 | Тяжелая<br>цепь<br>h0301-H1 | QVQLVQSGAE | VKKPGSSVKV | SCKASGYTFT | DNYMIWVRQA |
|    |                             | PGQGLEWMD  | INPYNGGTF  | NQKFKGRVTI | TVDKSTSTAY |
|    |                             | MELSSLRSED | TAVYYCARES | PYFSNLYVMD | YWGQGLTLTV |
|    |                             | SSASTKGPSV | FPLAPCSRST | SESTAALGCL | VKDYFPEPVT |
|    |                             | VSWNSGALTS | GVHTFPAVLQ | SSGLYSLSSV | VTVPSSSLGT |
|    |                             | KTYTCNVDHK | PSNTKVDKRV | ESKYGPPCPP | CPAPEFLGGP |
|    |                             | SVFLFPPKPK | DTLMISRTPE | VTCVVVDVSQ | EDPEVQFNWY |
|    |                             | VDGVEVHNAK | TKPREEQFNS | TYRVVSVLTV | LHQDWLNGKE |
|    |                             | YKCKVSNKGL | PSSIEKTISK | AKGQPREPQV | YTLPPSQEEM |
|    |                             | TKNQVSLTCL | VKGFYPSDIA | VEWESNGQPE | NNYKTTPPVL |
|    |                             | DSDGSFFLYS | RLTVDKSRWQ | EGNVFSCSVM | HEALHNHYTQ |
|    |                             | KSLSLSLGK  |            |            |            |
| 55 | Тяжелая<br>цепь<br>h0301-H2 | QVQLVQSGAE | VKKPGSSVKV | SCKASGYTFT | DNYMIWVRQA |
|    |                             | PGQGLEWIGD | INPYNGGTF  | NQKFKGRATL | TVDKSTSTAY |
|    |                             | MELSSLRSED | TAVYYCARES | PYFSNLYVMD | YWGQGLTLTV |
|    |                             | SSASTKGPSV | FPLAPCSRST | SESTAALGCL | VKDYFPEPVT |
|    |                             | VSWNSGALTS | GVHTFPAVLQ | SSGLYSLSSV | VTVPSSSLGT |
|    |                             | KTYTCNVDHK | PSNTKVDKRV | ESKYGPPCPP | CPAPEFLGGP |
|    |                             | SVFLFPPKPK | DTLMISRTPE | VTCVVVDVSQ | EDPEVQFNWY |
|    |                             | VDGVEVHNAK | TKPREEQFNS | TYRVVSVLTV | LHQDWLNGKE |
|    |                             | YKCKVSNKGL | PSSIEKTISK | AKGQPREPQV | YTLPPSQEEM |
|    |                             | TKNQVSLTCL | VKGFYPSDIA | VEWESNGQPE | NNYKTTPPVL |
|    |                             | DSDGSFFLYS | RLTVDKSRWQ | EGNVFSCSVM | HEALHNHYTQ |
|    |                             | KSLSLSLGK  |            |            |            |
| 56 | Тяжелая<br>цепь<br>H0302-H1 | QVQLVQSGAE | VKKPGSSVKV | SCKASGYTFS | DFNIHWVRQA |
|    |                             | PGQGLEWMDY | INPYTDVTY  | NEKFKGRVTI | TSDKSTSTAY |
|    |                             | MELSSLRSED | TAVYYCASYF | DGTFDYALDY | WGQGLTLTVS |
|    |                             | SASTKGPSVF | PLAPCSRSTS | ESTAALGCLV | KDYFPEPVTV |
|    |                             | SWNSGALTSG | VHTFPAVLQS | SGLYSLSSVV | TVPSSSLGTK |

|    |                             |            |            |            |             |
|----|-----------------------------|------------|------------|------------|-------------|
|    |                             | TYTCNVDHKP | SNTKVDKRVE | SKYGPPCPPC | PAPEFLGGPS  |
|    |                             | VFLFPPKPKD | TLMISRTPEV | TCVVVDVSQE | DPEVQFNWYV  |
|    |                             | DGVEVHNAKT | KPREEQFNST | YRVVSVLTVL | HQDWLNGKEY  |
|    |                             | KCKVSNKGLP | SSIEKTISKA | KGQPREPQVY | TLPPSQEEMT  |
|    |                             | KNQVSLTCLV | KGFYPSDIAV | EWESNGQPEN | NYKTTPPVLD  |
|    |                             | SDGSFFLYSR | LTVDKSRWQE | GNVFSCSVMH | EALHNHYTQK  |
|    |                             | SLSLSLGGK  |            |            |             |
| 57 | Тяжелая<br>цепь<br>H0302-H2 | QVQLVQSGAE | VKKPGSSVKV | SCKASGYTFS | DFNIHWVRQA  |
|    |                             | PGQGLEWIGY | INPYTDVTYV | NEKFKGRATL | TSDKSTSTAY  |
|    |                             | MELSSLRSED | TAVYYCASYF | DGTFDYALDY | WGQGTLLVTVS |
|    |                             | SASTKGPSVF | PLAPCSRSTS | ESTAALGCLV | KDYFPEPVTV  |
|    |                             | SWNSGALTSG | VHTFPAVLQS | SGLYSLSSVV | TVPSSSLGTK  |
|    |                             | TYTCNVDHKP | SNTKVDKRVE | SKYGPPCPPC | PAPEFLGGPS  |
|    |                             | VFLFPPKPKD | TLMISRTPEV | TCVVVDVSQE | DPEVQFNWYV  |
|    |                             | DGVEVHNAKT | KPREEQFNST | YRVVSVLTVL | HQDWLNGKEY  |
|    |                             | KCKVSNKGLP | SSIEKTISKA | KGQPREPQVY | TLPPSQEEMT  |
|    |                             | KNQVSLTCLV | KGFYPSDIAV | EWESNGQPEN | NYKTTPPVLD  |
|    |                             | SDGSFFLYSR | LTVDKSRWQE | GNVFSCSVMH | EALHNHYTQK  |
|    |                             | SLSLSLGGK  |            |            |             |
| 58 | Тяжелая<br>цепь<br>H0311-H1 | QVQLVQSGAE | VKKPGSSVKV | SCKASGYIFT | DYNMHWVRQA  |
|    |                             | PGQGLEWMGE | INPNNGVVVY | NQKFKGRVTI | TVDKSTSTAY  |
|    |                             | MELSSLRSED | TAVYYCTRAL | YHSNFGWYFD | SWGQGTLLVTV |
|    |                             | SSASTKGPSV | FPLAPCSRST | SESTAALGCL | VKDYFPEPVT  |
|    |                             | VSWNSGALTS | GVHTFPAVLQ | SSGLYSLSSV | VTVPSSSLGT  |
|    |                             | KTYTCNVDHK | PSNTKVDKRV | ESKYGPPCPP | CPAPEFLGGP  |
|    |                             | SVFLFPPKPK | DTLMISRTPE | VTCVVVDVSQ | EDPEVQFNWY  |
|    |                             | VDGVEVHNAK | TKPREEQFNS | TYRVVSVLTV | LHQDWLNGKE  |
|    |                             | YKCKVSNKGL | PSSIEKTISK | AKGQPREPQV | YTLPPSQEEM  |
|    |                             | TKNQVSLTCL | VKGFYPSDIA | VEWESNGQPE | NNYKTTPPVL  |
|    |                             | DSDGSFFLYS | RLTVDKSRWQ | EGNVFSCSVM | HEALHNHYTQ  |
|    |                             | KSLSLSLGGK |            |            |             |
| 59 | Тяжелая<br>цепь<br>H0311-H2 | QVQLVQSGAE | VKKPGSSVKV | SCKASGYIFT | DYNMHWVRQA  |
|    |                             | PGQGLEWMGE | INPNNGVVVY | NQKFKGTTTL | TVDKSTSTAY  |
|    |                             | MELSSLRSED | TAVYYCTRAL | YHSNFGWYFD | SWGQGTLLVTV |
|    |                             | SSASTKGPSV | FPLAPCSRST | SESTAALGCL | VKDYFPEPVT  |



|    |                            |            |            |             |            |
|----|----------------------------|------------|------------|-------------|------------|
|    |                            | VSWNSGALTS | GVHTFPAVLQ | SSGLYSLSSV  | VTVPSSSLGT |
|    |                            | KTYTCNVDPK | PSNTKVDKRV | ESKYGPPCPP  | CPAPEFLGGP |
|    |                            | SVFLFPPKPK | DTLMISRTPE | VTCVVVDVSQ  | EDPEVQFNWY |
|    |                            | VDGVEVHNAK | TKPREEQFNS | TYRVVSVLTV  | LHQDWLNGKE |
|    |                            | YKCKVSNKGL | PSSIEKTISK | AKGQPREPQV  | YTLPPSQEEM |
|    |                            | TKNQVSLTCL | VKGFYPSDIA | VEWESNGQPE  | NNYKTTPPVL |
|    |                            | DSDGSFFLYS | RLTVDKSRWQ | EGNVFSCSVM  | HEALHNHYTQ |
|    |                            | KSLSLSLGK  |            |             |            |
| 60 | Легкая<br>цепь<br>h0301-L0 | EIVLTQSPAT | LSLSPGERAT | LSCKASQSVD  | YDGDNYMNWY |
|    |                            | QOKPGQAPRL | LIYAASNLES | GIPARFSGSG  | SGTDFTLTIS |
|    |                            | SLEPEDFAVY | YCHLSNEDLS | TFGGGTKVEI  | KRTVAAPSVF |
|    |                            | IFPPSDEQLK | SGTASVVCLL | NNFYPPREAKV | QWKVDNALQS |
|    |                            | GNSQESVTEQ | DSKDSTYSLS | STLTLSKADY  | EKHKVYACEV |
|    |                            | THQGLSSPVT | KSFNRGEC   |             |            |
| 61 | Легкая<br>цепь<br>h0301-L1 | NIVLTQSPAT | LSLSPGERAT | LSCKASQSVD  | YDGDNYMNWY |
|    |                            | QOKPGQAPRL | LIYAASNLES | GIPARFSGSG  | SGTDFTLTIS |
|    |                            | SLEPEDFAVY | YCHLSNEDLS | TFGGGTKVEI  | KRTVAAPSVF |
|    |                            | IFPPSDEQLK | SGTASVVCLL | NNFYPPREAKV | QWKVDNALQS |
|    |                            | GNSQESVTEQ | DSKDSTYSLS | STLTLSKADY  | EKHKVYACEV |
|    |                            | THQGLSSPVT | KSFNRGEC   |             |            |
| 62 | Легкая<br>цепь<br>H0302-L0 | EIVLTQSPAT | LSLSPGERAT | LSCRASESVD  | NYGLSFMNWF |
|    |                            | QOKPGQAPRL | LIYTASNLES | GIPARFSGSG  | SGTDFTLTIS |
|    |                            | SLEPEDFAVY | YCQOSKELPW | TFGQGTKVEI  | KRTVAAPSVF |
|    |                            | IFPPSDEQLK | SGTASVVCLL | NNFYPPREAKV | QWKVDNALQS |
|    |                            | GNSQESVTEQ | DSKDSTYSLS | STLTLSKADY  | EKHKVYACEV |
|    |                            | THQGLSSPVT | KSFNRGEC   |             |            |
| 63 | Легкая<br>цепь<br>H0302-L1 | EIVLTQSPAT | LSLSPGERAT | LSCRASESVD  | NYGLSFMNWF |
|    |                            | QOKPGQAPRL | LIYTASNLES | GIPARFSGSG  | SRTDFTLTIS |
|    |                            | SLEPEDFAVY | YCQOSKELPW | TFGQGTKVEI  | KRTVAAPSVF |
|    |                            | IFPPSDEQLK | SGTASVVCLL | NNFYPPREAKV | QWKVDNALQS |
|    |                            | GNSQESVTEQ | DSKDSTYSLS | STLTLSKADY  | EKHKVYACEV |
|    |                            | THQGLSSPVT | KSFNRGEC   |             |            |
| 64 | Легкая<br>цепь<br>H0302-L2 | EIVVTQSPAT | LSLSPGERAT | LSCRASESVD  | NYGLSFMNWF |
|    |                            | QOKPGQAPRL | LIYTASNLES | GIPARFSGSG  | SRTDFTLTIS |
|    |                            | SLEPEDFAVY | YCQOSKELPW | TFGQGTKVEI  | KRTVAAPSVF |

|    |                                |   |
|----|--------------------------------|---|
|    |                                | IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS<br>GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV<br>THQGLSSPVT KSFNRGEC  |
| 65 | Легкая<br>цепь<br>H0311-L0     | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDHNMWY<br>QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF<br>IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS<br>GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV<br>THQGLSSPVT KSFNRGEC        |
| 66 | Легкая<br>цепь<br>H0311-L1     | DIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDHNMWY<br>QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIS<br>SLEPEDFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF<br>IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS<br>GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV<br>THQGLSSPVT KSFNRGEC        |
| 67 | CSF1<br>человека               | EEVSEYCSHM IGSGHLQSLQ RLIDSQMETS CQITFEFVDQ<br>EQLKDPVCYL KKAFLLVQDI MEDTMRFRDN TPNIAIVQL<br>QELSLRLKSC FTKDYEEHDK ACVRTFYETP LQLEKVKNV<br>FNETKNLLDK DWNIFSKNCN NSFAECSSQG HERQSEGS  |
| 68 | IL-34<br>человека              | NEPLEMWPLT QNEECTVTGF LRDKLQYRSR LQYMKHYFPI<br>NYKISVPYEG VFRIVANVTRL QRAQVSEREL<br>RYLWVLSLSATESVQDVLL EGHPSWKYLQ EVQTLNLLNVQ<br>QGLTDVEVSP KVESVLSLLN APGPNLKLVR PKALLDNCFR<br>VMELLYCSCC KQSSVLNWQD CEVPSPQSCS PEPSLQYAAT<br>QLYPPPPWSP SSPPHSTGSV RPVRAQGEGL LP |
| 69 | FR1<br>акцептора<br>А человека | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS   |
| 70 | FR2<br>акцептора<br>А человека | WVRQAPGQGL EWMG   |
| 71 | FR3<br>акцептора<br>А человека | RVTITADKST STAYMELSSL RSEDTAVYYC AR   |
| 72 | FR4                            | WGQGTLLTVS S  |

|    |                                |                                     |
|----|--------------------------------|-------------------------------------|
|    | акцептора<br>А человека        |                                     |
| 73 | FR1<br>акцептора<br>В человека | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS         |
| 74 | FR2<br>акцептора<br>В человека | WVRQAPGQGL EWMG                     |
| 75 | FR3<br>акцептора<br>В человека | RVTITADKST STAYMELSSL RSEDТАVYYC AR |
| 76 | FR4<br>акцептора<br>В человека | WGQGLTVTVSS                         |
| 77 | FR1<br>акцептора<br>С человека | QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS         |
| 78 | FR2<br>акцептора<br>С человека | WVRQAPGQGL EWMG                     |
| 79 | FR3<br>акцептора<br>С человека | RVTITADKST STAYMELSSL RSEDТАVYYC AR |
| 80 | FR4<br>акцептора<br>С человека | WGQGLTVTVS S                        |
| 81 | FR1<br>акцептора<br>D человека | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC           |
| 82 | FR2<br>акцептора<br>D человека | WYQQKPGQAP RLLIY                    |
| 83 | FR3<br>акцептора<br>D человека | GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC |

|    |                                |  |
|----|--------------------------------|--|
| 84 | FR4<br>акцептора<br>D человека | FGGGTKVEIK   |
| 85 | FR1<br>акцептора<br>E человека | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC  |
| 86 | FR2<br>акцептора<br>E человека | WYQQKPGQAP RLLIY   |
| 87 | FR3<br>акцептора<br>E человека | GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC  |
| 88 | FR4<br>акцептора<br>E человека | FGQGTKVEIK   |
| 89 | FR1<br>акцептора<br>F человека | EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC  |
| 90 | FR2<br>акцептора<br>F человека | WYQQKPGQAP RLLIY   |
| 91 | FR3<br>акцептора<br>F человека | GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC  |
| 92 | FR4<br>акцептора<br>F человека | FGQGTKVEIK   |
| 93 | mCSF1R<br>ECD-Fc               | APVIEPSGPE LVVEPGETVT LRCVSNNGSVE WDGPISPYWT<br>LDPESPGSTL TTRNATFKNT GTYRCTELED PMAGSTTIHL<br>YVKDPAHSWN LLAQEVTVVE GQEAVALPCLI TDPALKDSVS<br>LMREGGRQVL RKTVYFFSPW RGFIIRKAKV LDSNTYVCKT<br>MVNGRESTST GIWLKVNVRVH PEPPQIKLEP SKLVRIRGEA<br>AQIVCSATNA EVGFNVILKR GDTKLEIPLN SDFQDNYKK<br>VRALSLNAVD FQDAGIYSCV ASNDVGTRTA TMNFQVVESA<br>YLNLTSEQSL LQEVSVGDSL ILTVHADAYP SIQHYNWTYL |

|    |   |  |
|----|---|--|
|    |   | GPFEDQQRKL EFITQRAIYR YTFKLFLNRV KASEAGQYFL<br>MAQNKAGWNN LTFELTLRYP PEVSVTWMPV NGSDVLFCDV<br>SGYPQPSVTW MECRGHTDRC DEAQALQVWN DTHPEVLSQK<br>PFDKVI IQSQ LPIGTLKHNM TYFCKTHNSV GNSSQYFRAV<br>SLGQSKQEPK SSDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK<br>DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK<br>TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL<br>PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL<br>VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS<br>KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK |
| 94 | IgG4 S241P<br>человека  | ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS<br>WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT<br>YTCNVDPKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV<br>FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSDQED PEVQFNWYVD<br>GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK<br>CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK<br>NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS<br>DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS<br>LSLSLGK  |
| 95 | Igк<br>человека   | RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ<br>WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE<br>KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC  |
| 96 | Предшестве<br>ник CD40<br>человека<br>(с<br>сигнальной<br>последоват<br>ельностью)<br>UniProtKB/<br>Swiss-<br>Prot:<br>P25942.1,<br>04-MAR-<br>2015 | MVRLPLQCVL WGCLLTAVHP EPPTACREKQ YLINSQCCSL<br>CQPGQKLVSD CTEFTETECL PCGESEFLDT WNRETHCHQH<br>KYCDPNLGLR VQKGTSETD TICTCEEGWH CTSEACESCV<br>LHRSCSPGFG VKQIATGVSD TICEPCPVGF FSNVSSAFEK<br>CHPWTSCETK DLVVQQAGTN KTDVVCQPQD RLRALVVIPI<br>IFGILFAILL VLVFIKKVAK KPTNKAPHPK QEPQEINFPD<br>DLPGSNTAAP VQETLHGCQP VTQEDGKESR ISVQERQ  |

|    |   |  |  |                                    |   |
|----|---|--|--|------------------------------------|---|
| 97 | CD40<br>человека<br>(зрелый,<br>без<br>сигнальной<br>последова-<br>тельности) | EPPTACREKQ YLINSQCCSL CQPGQKLVSD CTEFTETECL<br>PCGESEFLDT WNRETHCHQH KYCDPNLGLR VQQKGTSETD<br>TICTCEEHWH CTSEACESCV LHRSCSPGFG VKQIATGVSD<br>TICEPCPVGF FSNVSSAFEK CHPWTSCETK DLVVQQAGTN<br>KTDVVCQPQD RLRALVVIPI IFGILFAILL VLVFIKKVAK<br>KPTNKAPHPK QEPQEINFPD DLPGSNTAAP VQETLHGCQP<br>VTQEDGKESR ISVQERQ |  |                                    |   |
|    | 98  | Тяжелая<br>цепь<br>дацетузума<br>ба  | EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYSFT GYYIHWVRQA<br>PGKGLEWVAR<br>VIPNAGGTSY NQKFKGRFTL SVDNSKNTAY LQMNSLRAED<br>TAVYYCAREG<br>IYWWGQGLV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG<br>CLVKDYFPEP<br>VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLV SVVTVPSSSL<br>GTQTYICNVN<br>HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTCPCCPAPE LLGGPSVFLF<br>PPKPKDTLMI<br>SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE<br>EQYNSTYRVV<br>SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP<br>REPQVYTLPP<br>SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT<br>TPPVLDSDGS<br>FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL<br>SPGK |                                    |   |
|    |   |  | 99   | Легкая<br>цепь<br>дацетузума<br>ба | DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSLV HSNQNTFLHW<br>YQQKPGKAPK<br>LLIYTVSNRF SGVPSRFGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT<br>YFCSQTTHVP<br>WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL<br>LNNFYPREAK<br>VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD<br>YEKHKVYACE<br>VTHQGLSSPV TKSFNREGC |

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у субъекта, где рак характеризуется присутствием макрофагов, экспрессирующих CSF1R, включающий введение субъекту антитела против CSF1R и по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, где антитело против CSF1R выбрано из:

а) антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 39, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 46;

б) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 16, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 19, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 20; и

с) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую

цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60; и

где по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист антитела против CD40.

2. Способ по п.1, где по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство дополнительно включает одно или более из:

а) агонист B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFN $\alpha$ , STING или агонист Toll-подобного рецептора, такого как агонист TLR2/4; и

б) средство, которое связывается с представителем семейства рецепторов TNF, или костимулирующей, или коингибиторной молекулой, связывающейся с представителем семейства рецепторов TNF, таким как CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LT $\alpha$ R, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGF/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNF $\beta$ , TNFR2, TNF $\alpha$ , 1 $\beta$ 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY или NGF $\beta$ .

3. Способ по п.2, где по меньшей мере одно дополнительное иммуностимулирующее средство включает рекомбинантный CD40L.

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, где антитело против CSF1R и агонист антитела против CD40 вводят одновременно или последовательно.

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, где антитело против CSF1R и агонист антитела против CD40 вводят одновременно.

6. Способ по п.5, где одну или несколько доз агониста антитела против CD40 вводят до введения антитела против CSF1R.

7. Способ по п.5, где одну или несколько доз антитела против CSF1R вводят до введения агониста антитела против CD40.

8. Способ по любому из предшествующих пунктов, где рак выбран из немелкоклеточного рака легкого, меланомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака яичника, рака поджелудочной железы, почечно-клеточного рака, печеночно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, лимфомы Ходжкина, рака легкого, глиомы, мультиформной глиобластомы, рака толстого кишечника, рака молочной железы, рака кости, рака кожи, рака матки, рака желудка, гастрального рака, лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, множественной миеломы, рака предстательной железы, мезотелиомы и рака почки.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, где рак является рецидивирующим или прогрессирующим после терапии, выбранной из хирургической операции, химиотерапии, лучевой терапии или их комбинации.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, где антитело против CSF1R блокирует связывание человеческого CSF1 и/или человеческого IL-34 с человеческим CSF1R.

11. Способ по любому из предшествующих пунктов, где антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование человеческого CSF1R *in vitro*.

12. Способ по любому из предшествующих пунктов, где антитело против CSF1R представляет собой гуманизированное антитело.

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, где антитело против CSF1R выбрано из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')<sub>2</sub>.

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, где агонист антитела против CD40 включает CDR антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузимаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4.

15. Способ по п.14, где агонист антитела против CD40 включает переменные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузимаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4.

16. Способ по п.14, где агонист антитела против CD40 представляет собой антитело, выбранное из CP-870.893; дацетузимаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4.

17. Композиция для лечения рака, характеризующегося присутствием макрофагов, экспрессирующих CSF1R, содержащая антитело против CSF1R и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство, где антитело против CSF1R выбрано из:

а) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 39, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 46;

б) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 16, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 19, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 20; и

с) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую

цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60; и

где по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист антитела против CD40.

18. Композиция по п.17, где композиция дополнительно включает:

(a) агонист B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFN $\alpha$ , STING или агонист Toll-подобного рецептора, такой как агонист TLR2/4; и/или

(b) средство, которое связывается с представителем семейства рецепторов TNF, или костимулирующей, или коингибиторной молекулой, связывающейся с представителем семейства рецепторов TNF, таким как CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LT $\beta$ R, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGT/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNF $\beta$ , TNFR2, TNF $\alpha$ , 1 $\beta$ 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY или NGF $\beta$ .

19. Композиция по п.18, где по меньшей мере одно дополнительное иммуностимулирующее средство включает рекомбинантный CD40L.

20. Композиция по любому из пп.17-19, где антитело против CSF1R представляет собой гуманизованное антитело.

21. Композиция по любому из пп.17-20, где антитело против CSF1R выбрано из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')<sub>2</sub>.

22. Композиция по любому из пп.17-21, где агонист антитела против CD40 включает CDR антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4.

23. Композиция по п.22, где агонист антитела против CD40 включает вариабельные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из CP-870.893; дацетузаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4.

24. Композиция по п.22, где агонист антитела против CD40 представляет собой антитело, выбранное из CP-870.893; дацетузаба; SEA-CD40; ADC-1013; RO7009789 и Chi Lob 7/4.

25. Композиция по любому из пп.17-24, где каждое из антитела против CSF1R и агониста антитела против CD4 находятся в отдельных отделениях или контейнерах.

26. Композиция по любому из пп.17-25, где антитело против CSF1R и агонист антитела против CD4 смешаны или составлены вместе.

27. Композиция по любому из пп.17-26, где рак выбран из немелкоклеточного рака легкого, меланомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака яичника, рака поджелудочной железы, почечно-клеточного рака, печеночно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, лимфомы Ходжкина, рака легкого, глиомы, мультиформной глиобластомы, рака толстого кишечника, рака молочной железы, рака кости, рака кожи, рака матки, рака желудка, гастрального рака, лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, множественной миеломы, рака предстательной железы, мезотелиомы и рака почки.

28. Применение композиции по любому из пп.17-26 для получения лекарственного средства для лечения рака, характеризующегося присутствием макрофагов, экспрессирующих CSF1R.

29. Применение по п.28, где рак выбран из немелкоклеточного рака легкого, меланомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака яичника, рака поджелудочной железы, почечно-клеточного рака, печеночно-клеточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, лимфомы Ходжкина, рака легкого, глиомы, мультиформной глиобластомы, рака толстого кишечника, рака молочной железы, рака кости, рака кожи, рака матки, рака желудка, гастрального рака, лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, множественной миеломы, рака предстательной железы, мезотелиомы и рака почки.

|                     |                 | Альтернативы CDRH1 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |   |
|---------------------|-----------------|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|---|
|                     |                 | CDR1H2             |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |   |
| Seq ID              | Цепь (L/H)      | 1                  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |   |   |
| CDR1H1              |                 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |   |
| Исходное            |                 | Y                  | Q | L | Q | Q | S | G | P | E | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C  | A |   |
| Агнецтор А человека |                 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab21                | Ab21.01-1.01810 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab22                | Ab21.01-1.01811 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab23                | Ab21.01-1.01812 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab24                | Ab21.01-1.01813 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab25                | Ab21.01-1.01814 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab26                | Ab21.01-1.01815 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| CDR1H2              |                 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |   |
| Исходное            |                 | R                  | Y | Q | L | Q | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Агнецтор В человека |                 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab27                | Ab21.02-1.01816 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab28                | Ab21.02-1.01817 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab29                | Ab21.02-1.01818 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab30                | Ab21.02-1.01819 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab31                | Ab21.02-1.01820 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab32                | Ab21.02-1.01821 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| CDR2H1              |                 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |   |
| Исходное            |                 | R                  | Y | Q | L | Q | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Агнецтор С человека |                 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab33                | Ab21.03-1.01822 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab34                | Ab21.03-1.01823 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab35                | Ab21.03-1.01824 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |
| Ab36                | Ab21.03-1.01825 | Q                  | V | Q | L | Y | Q | S | G | P | E  | L  | V  | H  | G  | A  | S  | V  | K  | M  | S  | C | A |

Фиг. 1А





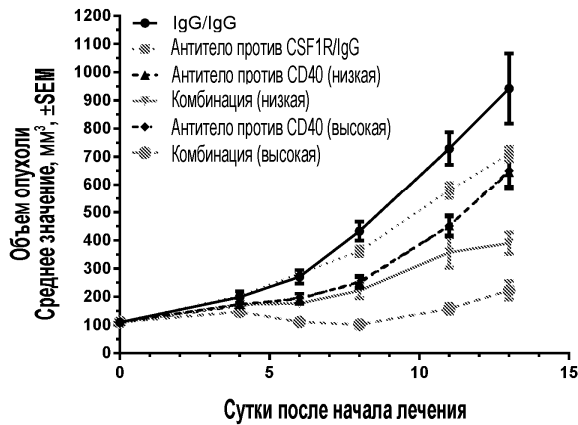
| Ab ID    | Цели L/H            | CDRL3 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |   |
|----------|---------------------|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|---|
|          |                     | 1     | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |   |   |
| cAb0301  | Исходное            | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | P | P  | K  | L  | L  | I  | Y  | A  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Анцептор D человека | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | A  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab1 h0301-L0H1      | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | A  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab2 h0301-L0H2      | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | A  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab3 h0301-L1H1      | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | A  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab5 h0301-L1H2      | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | A  | A  | S  | N  | L  | E | S |
| cAb0302  | Исходное            | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | P | P  | K  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Анцептор E человека | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab7 h0302-L0H1      | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab8 h0302-L1H1      | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab9 h0302-L2H1      | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab10 h0302-L0H2     | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
| cAb 0311 | Исходное            | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | P | P  | K  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Анцептор F человека | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab13 h0311-L0H1     | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab14 h0311-L1H1     | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab15 h0311-L0H2     | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |
|          | Ab16 h0311-L1H2     | K     | Y | Q | Q | K | P | G | Q | A | P  | R  | L  | L  | I  | Y  | T  | A  | S  | N  | L  | E | S |

Фиг. 2В

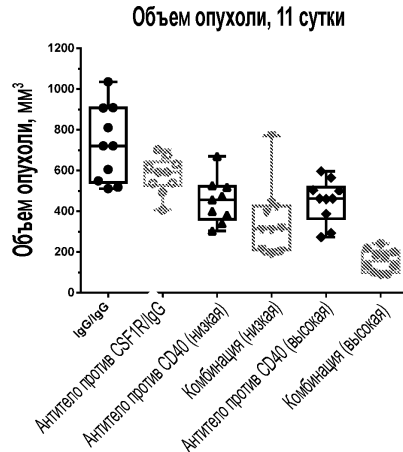
| Ab ID    | Цели L/H            | CDRL3 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | MSI |   |   |   |   |       |
|----------|---------------------|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|---|---|---|---|-------|
|          |                     | 1     | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |     |   |   |   |   |       |
| cAb0301  | Исходное            | F     | T | L | N | I | S | S | V | E | S  | D  | A  | A  | T  | Y  | Y  | C  | H  | L  | S  | N   | E | D | L | S | 10    |
|          | Анцептор D человека | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | H  | L  | S  | N   | E | D | L | S | 51-84 |
|          | Ab1 h0301-L0H1      | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | H  | L  | S  | N   | E | D | L | S | 46    |
|          | Ab2 h0301-L0H2      | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | H  | L  | S  | N   | E | D | L | S | 45    |
|          | Ab3 h0301-L0H2      | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | H  | L  | S  | N   | E | D | L | S | 46    |
|          | Ab4 h0301-L1H0      | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | H  | L  | S  | N   | E | D | L | S | 47    |
| cAb0302  | Исходное            | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 12    |
|          | Анцептор E человека | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 58-88 |
|          | Ab7 h0302-L0H1      | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 48    |
|          | Ab8 h0302-L1H1      | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 49    |
|          | Ab9 h0302-L2H1      | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 50    |
|          | Ab10 h0302-L0H2     | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 48    |
| cAb 0311 | Исходное            | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 14    |
|          | Анцептор F человека | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 69-92 |
|          | Ab13 h0311-L0H1     | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 51    |
|          | Ab14 h0311-L1H1     | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 52    |
|          | Ab15 h0311-L0H2     | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 51    |
|          | Ab16 h0311-L1H2     | F     | T | L | T | I | S | S | L | E | P  | E  | D  | F  | A  | V  | Y  | C  | Q  | Q  | S  | K   | E | L | P | W | 52    |

Фиг. 2С

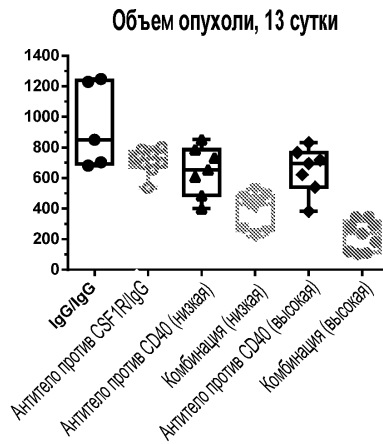
Рост опухоли МС38



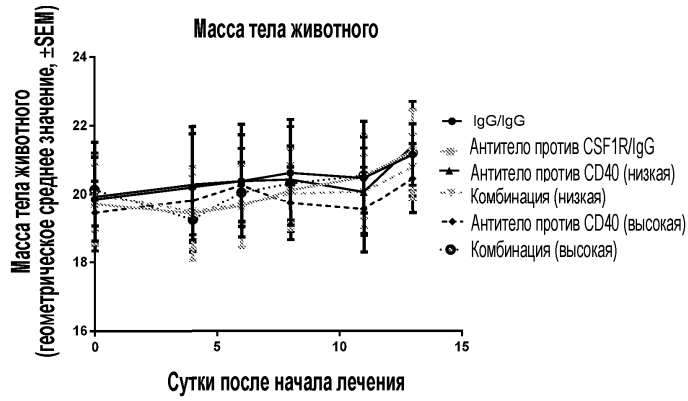
Фиг. 3



Фиг. 4А



Фиг. 4В



Фиг. 5

