

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290529 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.15(51) Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2020.09.15

(54) КОМПОЗИЦИИ АНТИТЕЛ К CD39 И СОПУТСТВУЮЩИЕ СПОСОБЫ

(31) 62/901,153; 62/902,285; 62/932,249;
62/935,969; 62/975,519; 63/003,191;
63/075,567

(72) Изобретатель:

Чапел Скотт, Лэйк Эндрю, Уоррен
Майкл, Дьюлак Остин, Деверо
Эрик, Холланд Памела М., Заиди
Таукир, Рауш Мэттью, Принц Бьянка,
Нильсон Нельс П., Дас Соня, О'Нилл
Элисон М. (US)

(32) 2019.09.16; 2019.09.18; 2019.11.07;
2019.11.15; 2020.02.12; 2020.03.31;
2020.09.08

(33) US

(86) PCT/US2020/050829

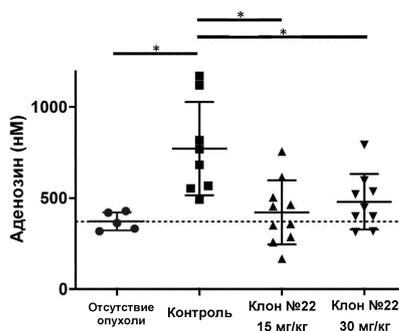
(87) WO 2021/055329 2021.03.25

(74) Представитель:

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

(71) Заявитель:
СЕРФЭЙС ОНКОЛОДЖИ, ИНК. (US)

(57) Изобретение относится к композициям антител к CD39 и их применению для лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления предложено выделенное анти-CD39 антитело. Такое выделенное анти-CD112R антитело связывается с CD39 человека, при этом антитело необязательно представляет собой полностью человеческое или гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу усиления, повышения и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающему введение антитела или композиции, описанной в данном документе, субъекту, имеющему опухоль.



A1

202290529

202290529

A1

КОМПОЗИЦИИ АНТИТЕЛ К CD39 И СОПУТСТВУЮЩИЕ СПОСОБЫ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/901153, поданной 16 сентября 2019 г., и предварительной заявке на патент США № 62/902285, поданной 18 сентября 2019 г., и предварительной заявке на патент США № 62/932249, поданной 7 ноября 2019 г., и предварительной заявке на патент США № 62/935969, поданной 15 ноября 2019 г., и предварительной заявке на патент США № 62/975519, поданной 12 февраля 2020 г., и предварительной заявке на патент США № 63/003191, поданной 31 марта 2020 г., и предварительной заявке на патент США № 63/075567, поданной 8 сентября 2020 г., все из которых полностью включены посредством ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Данная заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронной форме в формате ASCII и в полном объеме включен в данный документ посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 9 сентября 2020, называется 2020-09-09_01219-0005-00-РСТ_ST25.txt и имеет размер 1641716 байтов.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Предложены антитела к CD39, а также их применения для усиления, повышения и поддержания противоопухолевого иммунного ответа, уменьшения количества внеклеточного аденозина в микроокружении опухоли и лечения злокачественного новообразования.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Иммунная система действует через супрессивные пути, предотвращая рост раковых клеток. Злокачественные опухоли используют различные механизмы для подавления иммуносупрессивных путей, чтобы избежать распознавания и устранения иммунными клетками и позволить болезни прогрессировать. Иммуноterapia борется со злокачественной опухолью, модифицируя иммунную систему пациента, либо напрямую стимулируя процессы отторжения, либо блокируя супрессивные пути.

[0005] Аденозин представляет собой иммуномодулирующий метаболит в микроокружении опухоли (ТМЕ), который препятствует противоопухолевым ответам иммунной системы. При некоторых злокачественных опухолях внеклеточный аденозин накапливается и впоследствии подавляет функцию иммунных клеток, включая Т-клетки, дендритные клетки (ДК) и натуральные клетки-киллеры (NK), тем самым способствуя подавлению противоопухолевого иммунитета и поддерживая рост опухоли.

[0006] Эктонуклеотидаза CD39 гидролизует внеклеточный аденозинтрифосфат (АТФ) и аденозиндифосфат (АДФ) с образованием аденозинмонофосфата (АМФ), который затем превращается в аденозин с помощью CD73. Внеклеточный аденозин связывается с аденозиновыми рецепторами на иммунных клетках, подавляя тем самым иммунную систему. Сверхэкспрессия CD39 связана с плохим прогнозом у пациентов с определенными типами злокачественного новообразования. В ТМЕ аденозиновый путь относится к внеклеточному превращению АТФ в аденозин и передаче сигналов аденозина через аденозиновые рецепторы A2A/A2B на иммунные клетки. В нормальных условиях CD39 поддерживает баланс внеклеточных уровней иммуносупрессивного аденозина и иммуностимулирующего АТФ. В нормальных тканях АТФ практически не обнаруживается во внеклеточной среде из-за быстрого расщепления под действием CD39 и

превращения в аденозин под действием CD73. В условиях клеточного стресса, включая злокачественное новообразование, уровни внеклеточного АТФ значительно повышаются, что приводит к высокому уровню аденозина, который подавляет распознавание опухоли иммунной системой и противоопухолевый ответ.

[0007] По-прежнему существует неудовлетворенная потребность в разработке новых видов противораковой терапии. Новые комбинации с существующими видами терапии и терапевтическими схемами также необходимы для более эффективной борьбы с различными видами злокачественных новообразований.

I. СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] В некоторых вариантах осуществления предложено выделенное антитело к CD39. Такое выделенное антитело к CD39 связывается с CD39 человека, причем указанное антитело необязательно полностью человеческое или гуманизированное.

[0009] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предложено выделенное антитело, содержащее:

(a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; или

(a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; или

(a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 201; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 203; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 204; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 205; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206; или

(a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 301; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 302; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 303; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 304; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 305; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306; или

(a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 401; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 402; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 403; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 404; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 405; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 406; или

(a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 501; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 502; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 503; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 504; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 505; и (f) LCDR3,

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5018; или VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6018; или VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7018; или VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8018; или VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9018; или VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10018; или VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20018; или VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30018.

[0011] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3), как описано в данном документе, и последовательности VH и/или VL, которые по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны аминокислотной последовательности VH и/или VL, описанной в данном документе. В некоторых вариантах осуществления последовательности VH и/или VL не на 100% идентичны аминокислотной последовательности, описанной в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, описанные в настоящем документе, и вариацию последовательности в последовательностях VH и/или VL, которая находится за пределами последовательностей CDR. В таких вариантах осуществления вариация последовательностей VH и/или VL находится в пределах одной или более каркасных областей VH и/или VL.

[0012] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности VH и/или VL, которые по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны аминокислотной последовательности, описанной в данном документе. В некоторых вариантах осуществления последовательности VH и/или VL не на 100% идентичны аминокислоте, описанной в данном документе. В таких вариантах осуществления вариация последовательностей VH и/или VL находится в и/или за пределами последовательностей CDR, если не указано иное.

[0013] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом: VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, а VL содержит аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 30018.

[0014] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой клон 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, или 22, или его CD39-связывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой клон 22.

[0015] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизованное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полностью человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой фрагмент антитела, где фрагмент антитела связывает CD39. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой фрагмент антитела, выбранный из Fab, Fab', Fv, scFv или (Fab')₂. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит область Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи мутантного IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область мутантного IgG4 содержит мутацию, выбранную из замены в Ser228, замены в Leu235, замены в Asn297 или их комбинации, нумерация в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи мутантного IgG4 содержит замену S228P. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 40002. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 40003. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит легкую каппа-цепь человека.

[0016] В некоторых вариантах осуществления в описании предложена композиция, содержащая раскрытое в данном документе антитело и фармацевтически приемлемый носитель.

[0017] В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с CD39 и ингибирует его. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает или ингибирует ферментативную активность CD39 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с рекомбинантным CD39 и/или с CD39 человека, связанным с мембраной. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с CD39 человека с равновесной константой диссоциации (K_D), равной менее 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D для связывания с CD39 человека составляет около 1,11 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с CD39 человека и CD39 яванского макака, но не связывается с CD39 мыши или CD39 крысы. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует или снижает превращение CD39 человека внеклеточного аденозинтрифосфата (вАТФ) или внеклеточного аденозиндифосфата (вАДФ) во внеклеточный аденозинмонофосфат (вАМФ). В некоторых вариантах осуществления антитело увеличивает количество вАТФ. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает или уменьшает количество внеклеточного аденозина. В некоторых вариантах осуществления антитело поддерживает, увеличивает или усиливает иммуностимулирующий уровень вАТФ. В некоторых вариантах осуществления антитело агонизирует человеческому CD39 в опухолевом микроокружении ткани. В некоторых вариантах осуществления антитело перекрестно реагирует с CD39 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело увеличивает или усиливает пролиферацию лимфоцитов. В некоторых вариантах осуществления антитело увеличивает или усиливает инфильтрацию макрофагов в опухоли. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с CD39 и ингибирует CD39 в нормальной или раковой ткани. В некоторых вариантах осуществления ткань находится в матке, шейке матки,

легком, предстательной железе, молочной железе, голове, шее, толстой кишке или яичнике. В некоторых вариантах осуществления ткань находится в матке. В некоторых вариантах осуществления в матке антитело ингибирует CD39 в миометрии.

[0018] В некоторых вариантах осуществления предложен способ ингибирования активности CD39 в ткани, где антитело содержит (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30006. В некоторых вариантах осуществления антитело, ингибирующее активность CD39 в ткани, содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 30012 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 30018. В некоторых вариантах осуществления антитело, ингибирующее активность CD39 в ткани, содержит тяжелую цепь SEQ ID NO: 30019. В некоторых вариантах осуществления антитело, ингибирующее активность CD39 в ткани, содержит легкую цепь 30021. В некоторых вариантах осуществления антитело, ингибирующее активность CD39 в ткани, содержит тяжелую цепь SEQ ID NO: 30019 и легкую цепь 30021. В некоторых вариантах осуществления антитело, ингибирующее активность CD39 в ткани, представляет собой клон 22.

[0019] В некоторых вариантах осуществления в описании предложен способ усиления, повышения и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающий введение антитела или композиции, описанной в данном документе, субъекту, имеющему опухоль.

[0020] В некоторых вариантах осуществления в описании предложен способ лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающий введение антитела или композиции, описанной в данном документе, субъекту, имеющему злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления в описании предложен способ ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающий введение антитела или композиции, описанных в данном документе, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством до введения. В некоторых вариантах осуществления в описании предложен способ предотвращения CD39-опосредованного превращения вАТФ и вАДФ во внеклеточный аденозин в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающий введение антитела или композиции, описанных в данном документе, при этом введение снижает уровни внеклеточного аденозина в опухолевом микроокружении ткани. В некоторых вариантах осуществления в описании предложен способ ингибирования активности CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающий введение антитела или композиции, описанных в данном документе, причем введение улучшает способность вызывать иммунный ответ против опухолевой клетки.

[0021] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой карциному, лимфому, бластому, саркому или лейкоз. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (в том числе плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишок, карциному эндометрия или

матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечно-клеточную карциному, рак печени, рак предстательной железы, рак влагалища, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому или различные типы злокачественного новообразования головы и шеи (в том числе плоскоклеточную карциному головы и шеи). В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак эндометрия. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой немелкоклеточный рак легкого. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак яичников.

[0022] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является распространенным. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является рецидивирующим. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является рефрактерным. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является метастатическим. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рецидивирующую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рефрактерную солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой метастатическую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную и/или рецидивирующую, и/или рефрактерную, и/или метастатическую солидную опухоль.

[0023] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, имеющего злокачественное новообразование, наблюдали прогрессирование заболевания во время или после стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления субъект, имеющий злокачественное новообразование, не переносил стандартную терапию. В некоторых вариантах осуществления субъект, который имеет злокачественное новообразование, не имеет в своем распоряжении доступных подходящих видов терапии на основании заключения исследователя.

[0024] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, дополнительно включают применение второй терапии. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой лучевую терапию, хирургическое вмешательство или введение второго агента. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой введение химиотерапевтического средства, опсонизирующего агента или агента, истощающего популяцию регуляторных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой таргетную противораковую терапию, онколитическое лекарственное средство, цитотоксический агент, иммунотерапию, цитокин, активатор костимулирующей молекулы, ингибитор ингибирующей молекулы, вакцину или клеточную иммунотерапию или их комбинацию. В некоторых таких вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, антагонист аденозинового рецептора A2A (A2AR), антагонист аденозинового рецептора A2B (A2BR), двойной антагонист A2AR/A2BR, ингибитор

CD40, ингибитор CD73, терапию клетками с химерным антигенными рецепторами (CAR) или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PD-L1. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист Lag-3. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист TIM-3. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист аденозинового рецептора A2AR. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист аденозинового рецептора A2BR. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой двойной антагонист A2AR/A2BR. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой ингибитор CD40. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой ингибитор CD73. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой терапию клетками с химерными антигенными рецепторами (CAR). В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист TIGIT, CD112R или CD96 или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист TIGIT. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист CD112R. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист CD96. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PVRL1, PVRL2, PVRL3, PVRL4 или CD155 или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PVRL1. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PVRL2. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PVRL3. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист PVRL4. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист CD155. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист CD47, или антагонист цитокина IL-27, или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления второй агент представляет собой провоспалительный цитокин, агонист провоспалительного цитокина или слитый цитокин (например, NKTR-214, агонист IL-15). В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист CD47. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист IL-27. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой агонист STING. В некоторых вариантах осуществления одна или более дополнительных видов терапии представляют собой антрациклин. В некоторых вариантах осуществления антрациклин выбран из доксорубина, даунорубина, эпирубина, идарубина и валрубина. В некоторых вариантах осуществления антрациклин представляет собой доксорубин. В некоторых вариантах осуществления антагонист представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой гемцитабин и паклитаксел (включая связанный с альбумином паклитаксел). В некоторых вариантах осуществления вторая терапия представляет собой пембролизумаб. В других вариантах осуществления вторая терапия представляет собой антагонист A2AR, антагонист A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR.

[0025] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, дополнительно включают применение второй терапии, при этом вторая терапия представляет собой антагонист CD47. В некоторых вариантах осуществления антагонист CD47 представляет собой антитело к CD47. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD47 содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40004, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40005. В некоторых

вариантах осуществления антитело к CD47 содержит: (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40006; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40007; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40008; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40009; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NOL 40010; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40011.

[0026] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, дополнительно включают применение антитела к CD39, второй терапии и третьей терапии, также называемую в данном документе комбинацией трех противораковых терапий. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, химиотерапевтический агент и антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, химиотерапевтический агент и антагонист PD-L1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, агент, нацеленный на аденозиновую ось, (например, ингибитор CD73 или A2AR, A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR) и антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, агент, нацеленный на аденозиновую ось, (например, ингибитор CD73 или A2AR, A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR) и антагонист PD-L1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, ингибитор CD73 и антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, ингибитор CD73 и антагонист PD-L1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, антагонист A2AR, A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR и антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, антагонист A2AR, A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR и антагонист PD-L1. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, агент, нацеленный на аденозиновую ось, (например, ингибитор CD73 или A2AR, A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR) и химиотерапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, ингибитор CD73 и химиотерапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления комбинация трех противораковых терапий включает антитело к CD39, антагонист A2AR, A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR и химиотерапевтический агент.

[0027] В некоторых вариантах осуществления в описании предложено применение антитела или композиции, описанной в данном документе, для усиления, и/или увеличения, и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа, и/или лечения злокачественного новообразования.

[0028] В некоторых вариантах осуществления в описании предложено применение антитела или композиции, описанной в данном документе, для приготовления лекарственного средства для усиления, и/или увеличения, и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа, и/или лечения злокачественного новообразования.

[0029] В некоторых вариантах осуществления в описании предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антитело, описанное в данном документе.

[0030] В некоторых вариантах осуществления в описании предложена клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, описанное в данном документе.

[0031] В некоторых вариантах осуществления в описании предложен способ получения описанного в данном документе антитела, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую

кислоту, кодирующую антитело, описанное в данном документе, при этом клетка-хозяин культивируется в условиях, при которых экспрессируется антитело. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает очищение антитела.

[0032] В некоторых вариантах осуществления в описании предложен набор, содержащий антитело или композицию, описанные в данном документе, нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, описанное в данном документе, клетку-хозяин, содержащую нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, описанное в данном документе, или любую их комбинацию.

[0033] Иллюстративные варианты осуществления изобретения включают следующее:

Вариант осуществления 1. Выделенное антитело к CD39, которое связывается с CD39 человека, причем указанное антитело необязательно полностью человеческое или гуманизованное.

Вариант осуществления 2. Выделенное антитело по варианту осуществления 1, в котором выделенное антитело содержит:

- i) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; или
- ii) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; или
- iii) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 201; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 203; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 204; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 205; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206; или
- iv) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 301; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 302; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 303; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 304; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 305; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306; или
- v) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 401; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 402; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 403; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 404; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 405; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 406; или

- xx) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10006; или
- xxi) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20006; или
- xxii) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30006.

Вариант осуществления 3. Выделенное антитело по п. 1, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом:

- i) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18; или
- ii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 112 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 118; или
- iii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 212 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 218; или
- iv) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 312 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 318; или
- v) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 412 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 418; или
- vi) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 512 и VL по меньшей мере на

- xvii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7018; или
- xviii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8018; или
- xix) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9018; или
- xx) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10018; или
- xxi) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20018; или
- xxii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30018.

Вариант осуществления 4. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-3, в котором антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом:

- i) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; или
- ii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118; или
- iii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 212, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 218; или
- iv) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 312, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 318; или
- v) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 412, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 418; или
- vi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 512, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 518; или
- vii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 612, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 618; или
- viii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 712, а VL содержит

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 718; или
- ix) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 812, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 818; или
 - x) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 912, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 918; или
 - xi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1018; или
 - xii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2018; или
 - xiii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3018; или
 - xiv) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4018; или
 - xv) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5018; или
 - xvi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6018; или
 - xvii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7018; или
 - xviii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8018; или
 - xix) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9018; или
 - xx) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10018; или
 - xxi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20018; или
 - xxii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30018.

Вариант осуществления 5. Выделенное антитело по любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором указанное антитело представляет собой моноклональное антитело.

Вариант осуществления 6. Выделенное антитело по любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором антитело представляет собой полноразмерное антитело или фрагмент антитела, необязательно Fab, Fab', Fv, scFv или (Fab')₂.

Вариант осуществления 7. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-5, в котором антитело содержит область Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, при этом антитело необязательно содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека, константную область тяжелой цепи IgG4 человека или мутантную константную область тяжелой цепи IgG4 человека, при этом мутантная константная область тяжелой цепи IgG4 человека необязательно содержит мутацию, выбранную из замены в Ser228, замены в Leu235, замены в Asn297 или их комбинации, нумерация в соответствии с нумерацией EU, или замена S228P и замена L235E, нумерация в соответствии с нумерацией EU, или при этом антитело содержит константную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 40002 или SEQ ID NO:

40003, и/или при этом антитело необязательно содержит легкую каппа-цепь человека.

Вариант осуществления 8. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1–7, в котором антитело

- (i) связывается и ингибирует CD39, необязательно, при этом антитело связывается с CD39 и ингибирует CD39 в нормальной или раковой ткани, необязательно, при этом ткань находится в матке, шейке матки, легких, предстательной, молочной железы, голове, шее, толстой кишке или яичнике, необязательно, при этом ткань находится в матке, и необязательно в матке, антитело ингибирует CD39 в миометрии;
- (ii) ингибирует или снижает ферментативную активность CD39 человека;
- (iii) связывается с рекомбинантным CD39 человека и/или с мембраносвязанным CD39 человека;
- (iv) связывается с CD39 человека с равновесной константой диссоциации (K_D), равной менее 10 нМ;
- (v) связывается с CD39 человека с K_D , равной около 1,11 нМ;
- (iv) связывается с CD39 человека и CD39 яванского макака, но не связывается с CD39 мыши или CD39 крысы;
- (vii) ингибирует или снижает превращение CD39 человека внеклеточного аденозинтрифосфата (вАТФ) или внеклеточного аденозиндифосфата (вАДФ) во внеклеточный аденозинмонофосфат (вАМФ);
- (viii) увеличивает или повышает уровень вАТФ;
- (ix) снижает или уменьшает уровень внеклеточного аденозина;
- (x) поддерживает, увеличивает или усиливает иммуностимулирующий уровень вАТФ;
- (xi) противодействует CD39 человека в опухолевом микроокружении ткани;
- (xii) перекрестно реагирует с CD39 яванского макака;
- (xiii) увеличивает или усиливает пролиферацию лимфоцитов;
- (xiv) увеличивает или усиливает инфильтрацию макрофагов в опухоли; или
- (xv) снижает активность или количество CD39 в опухолевой ткани.

Вариант осуществления 9. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из вариантов осуществления 1-8 и фармацевтически приемлемый носитель, причем композиция необязательно содержит опсонизирующий агент, агент, истощающий популяцию регуляторных Т-клеток, химиотерапевтический препарат и/или антагонист PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, A2AR, A2BR, двойной антагонист A2AR/A2BR, CD40 или CD73, и/или антагонист TIGIT, CD112R или CD96, и/или антагонист PVRL1, PVRL2, PVRL3, PVRL4 или CD155, и/или антагонист CD47, или IL-27, и/или агонист STING, и/или препарат на основе CAR-клеток, необязательно, где антагонист представляет собой антитело.

Вариант осуществления 10. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-8 или фармацевтическая композиция по варианту 9 для применения в снижении количества или активности CD39 в ткани, усилении, увеличении и/или поддержании противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, и/или ингибировании CD39 в ткани субъекта, при котором введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани человека по сравнению с активностью или количеством до введения.

Вариант осуществления 11. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-8 или фармацевтическая композиция по варианту осуществления 9 для применения при лечении злокачественного новообразования у субъекта, при этом злокачественное новообразование,

необязательно, представляет собой карциному, лимфому, бластому, саркому или лейкемию, или при этом злокачественное новообразование, необязательно, представляет собой плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (в том числе плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишок, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечно-клеточную карциному, рак печени, рак предстательной железы, рак влагалища, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому или различные типы злокачественного новообразования головы и шеи (в том числе плоскоклеточную карциному головы и шеи); и/или при этом злокачественное новообразование является распространенным, и/или рецидивирующим, и/или рефрактерным, и/или метастатическим, и/или при этом злокачественное новообразование представляет собой распространенную солидную опухоль, и/или рецидивирующую солидную опухоль, и/или рефрактерную солидную опухоль и/или метастатическую солидную опухоль.

Вариант осуществления 12. Выделенное антитело или фармацевтическая композиция для применения в соответствии с вариантом осуществления 10 или 11, в которых применение дополнительно включает применение второй терапии, причем вторая терапия необязательно представляет собой лучевую терапию, хирургическое вмешательство или введение антагониста PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, A2AR, A2BR, A2AR/A2BR, CD40, CD73, TIGIT, CD112R, CD96, PVRL1, PVRL2, PVRL3, PVRL4, CD155, CD47 или IL-27, агониста STING, препарат на основе CAR-клеток или их комбинацию, при этом антагонист необязательно представляет собой антитело.

Вариант осуществления 13. Выделенное антитело или фармацевтическая композиция для применения в соответствии с вариантом осуществления 10 или 11, где применение дополнительно включает применение второй терапии, где вторая терапия представляет собой антагонист CD47, необязательно при этом антагонист CD47 представляет собой антитело к CD47, необязательно при этом антитело к CD47 содержит:

- a) переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40004, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40005; и/или
- b) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40006; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40007; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40008; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40009; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40010; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40011.

Вариант осуществления 14. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из вариантов осуществления 1-8.

Вариант осуществления 15. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по любому из вариантов осуществления 1-8.

Вариант осуществления 16. Способ получения антитела по любому из вариантов осуществления 1-8, включающий культивирование клетки-хозяина согласно варианту осуществления 15 в условиях, при которых экспрессируется антитело, необязательно дополнительно включающий очищение антитела.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0034] **На Фиг. 1А, 1В, 1С и 1D** показана способность антител к CD39 в двух концентрациях по сравнению с контрольным антителом IgG1 связываться с клетками SK-MEL-28 (Фиг. 1А и 1В) и клетками MOLP-8 (Фиг. 1С и D).

[0035] **На Фиг. 2А, 2В, 2С и 2D** показана способность антител к CD39 по сравнению с контрольным антителом IgG1 ингибировать ферментативную активность CD39 в клетках SK-MEL-28 (Фиг. 2А и 2В) и клетках MOLP-8 (Фиг. 2С и 2D).

[0036] **На Фиг. 3А, 3В и 3С** показана способность антител к CD39 в диапазоне доз по сравнению с контрольным антителом IgG1 ингибировать ферментативную активность CD39 в клетках SK-MEL-28 (Фиг. 3С) и клетках MOLP-8 (Фиг. 3А и 3В).

[0037] **На Фиг. 4А, 4В, 4С и 4D** изображена способность антител к CD39 в диапазоне доз по сравнению с контрольным антителом IgG1 ингибировать ферментативную активность CD39 в моноцитах (Фиг. 4А и 4В) и В-клетках (Фиг. 4С. и 4D).

[0038] **На Фиг. 5А и 5В** показаны измерения аффинности к антителам к CD39.

[0039] **На Фиг. 6А и 6В** показана способность анти-CD39 увеличивать пролиферацию CD4+ Т-клеток из МКПК человека в ответ на лечение в диапазоне концентраций для наивных (Фиг. 6А) и антител с созревшей аффинностью (Фиг. 6В).

[0040] **На Фиг. 7А и 7В** показано, что лечение модели ксенотрансплантата MOLP-8 у мышей клоном 22 приводит к ингибированию роста опухоли, отображая уровни клона 22 в плазме и процент (%) занятости мишени (ЗМ) (Фиг. 7А) и объем опухоли (Фиг. 7В).

[0041] **На Фиг. 8А, 8В, 8С и 8D** показано, что лечение модели ксенотрансплантата MOLP-8 у мышей клоном 22 приводит к увеличению инфильтрации макрофагов в опухоли, что продемонстрировано при помощи проточной цитометрии (Фиг. 8А) и иммуногистохимического окрашивания (Фиг. 8В и Фиг. 8С), и снижает объем опухоли (Фиг. 8D).

[0042] **На Фиг. 9А и 9В** показана способность клона 22 ингибировать ферментативную активность CD39 в опухолях MOLP-8 от получавших лечение мышей.

[0043] **На Фиг. 10** показаны окрашенные срезы ткани матки яванских макаков после окрашивания в анализе АТФазы CD39 у 3 различных животных в каждой дозовой группе: носитель, 10 мг/кг, 30 мг/кг и 100 мг/кг клона 22.

[0044] **На Фиг. 11** показана способность клона 22 снижать повышенные системные уровни аденозина в модели ксенотрансплантата H520 у мышей.

[0045] **На Фиг. 12А, 12В, 12С, 12D и 12Е** показано связывание клона 22 с моноцитами (Фиг. 12А) и В-клетками (Фиг. 12В) дозозависимым образом. Процент (%) занятости мишени (ЗМ) рассчитывали путем сравнения титрования дозы клона 22 с насыщающим «внутренним стандартом» клона 22 в качестве контроля максимальной занятости для моноцитов (Фиг. 12С) и В-клеток (Фиг. 12D). Цельную кровь, предварительно обработанную клоном 22, лизировали эритроцитами и рассчитывали процент (%) ингибирования гидролиза АТФ (Фиг. 12Е).

[0046] **На Фиг. 13А, 13В, 13С, 13D и 13Е** показаны данные связывания для клона 22. Сенсограммы связывания для связывания рекомбинантного человеческого CD39 с клоном 22 (Фиг. 13А), связывания мышинового CD39 с клоном 22 (Фиг. 13В), связывания мышинового CD39 с Duha59 (Фиг. 13С), связывания крысиного CD39 с клоном 22 (Фиг. 13D) и связывания CD39 яванского макака с клоном 22 (Фиг. 13Е). Каждая кривая представляет возрастающие концентрации рекомбинантного анализата CD39, вычтенные из контрольной кривой. Сплошные линии указывают на общую аппроксимацию модели связывания 1: 1 (кинетика псевдопервого порядка) анализата и лиганда (рекомбинантный CD39: клон 22 или Duha59). Вертикальные пунктирные линии указывают на начало ассоциации и диссоциации, соответственно, для анализата рекомбинантного CD39.

[0047] **На Фиг. 14** показана кооперативная активность мышинового антитела к CD39 в сочетании с мышинным антителом к PD-1 в мышинной модели СТ26.

[0048] **На Фиг. 15** показан повышенный процент трижды положительных клеток (PD1, TIM3, Lag3) CD4+ CD39+ клеток из МКПК, обработанных АТФ и клоном 22.

[0049] **На Фиг. 16** показан комбинированный эффект клона 22 и паклитаксела в модели ксенотрансплантата рака легкого человека H520.

[0050] **На Фиг. 17** показано влияние мышинных антител к CD39 на опухоль-инфильтрирующие лимфоциты: CD8+ Т-клетки (Фиг. 17А), CD4+ Т-клетки (Фиг. 17В) и регуляторные Т-клетки (Фиг. 17С) в мышинной модели СТ26, а также влияние на объем опухоли (Фиг. 17D).

[0051] **На Фиг. 18** показан эффект клона 22 отдельно и в комбинации с гемцитабином на модели биоптата опухоли аденокарциномы протока поджелудочной железы человека.

[0052] **На Фиг. 19** показано влияние одного клона 22 или одного антитела к CD47 или комбинации клона 22 и антитела к CD47 на объем опухоли (Фиг. 19А) и выживаемость (Фиг. 19В) на мышинной модели множественной миеломы человека MOLP-8.

[0053] **На Фиг. 20** показаны результаты секвенирования одноклеточной РНК (scRNAseq) иммунных клеток в ТМЕ мышей СТ26 из комбинированного анализа мышей, получавших антитело изотипического контроля, антитело к CD39 мыши, антитело к PD-1 мыши и комбинацию антитела к CD39 мыши и антитела к PD-1 мыши. Типы клеток сгруппированы на основе дифференциальной экспрессии иммунных маркеров. По осям X и Y показаны аппроксимации и проекции однородного многообразия (UMAP), алгоритма уменьшения размерности, применяемый для выполнения анализа методом scRNAseq. Координаты X и Y демонстрируют расстояние между каждой клеткой, демонстрируя кластеры клеток, которые были сопоставлены с определенным фенотипом.

[0054] **На Фиг. 21А-С** показан увеличенный инфильтрат лимфоцитов в ТМЕ мышей СТ26, получавших одно антитело к PD-1 мыши или в комбинации с антителом к CD39 мыши. На Фиг. 21А показано увеличение частоты встречаемости CD45+ клеток в CD8+ кластере клеток и в лимфоцитарном кластере клеток в популяциях, обработанных изотипическим антителом и антителом к PD1, по сравнению с антителом изотипического контроля. На Фиг. 21В показано количество CD8+ клеток на мм², определенное при помощи иммуногистохимии (ИГХ) у не получавших лечение мышей СТ26 или мышей СТ26, получавших антитело изотипического контроля («Группа 1 Изо»), антитело к CD39 мыши («Группа 2 CD39»), антитело к PD-1 мыши («Группа 3 PD-1») или антитело к CD39 мыши + антитело к PD-1 мыши («Группа 4 Комбо»). На Фиг. 21С показаны репрезентативные изображения ИГХ образцов опухолей, выделенных у мышей СТ26, получавших лечение антителом к PD-1 мыши (нижнее изображение) или антителом изотипического контроля (верхнее изображение).

[0055] На **Фиг. 22** показана частота типов иммунных клеток, инфильтрирующих в ТМЕ мышей СТ26, получавших лечение антителом к CD39 мыши или антителом изотипического контроля с использованием анализа методом scRNAseq. Частота для кластера каждого типа клеток показана как кратное изменение среднего кратного изменения для группы изотипического контроля.

[0056] На **Фиг. 23А-В** показано повышение экспрессии генов IFN γ ответа в опухоли-ассоциированных макрофагах после лечения антителом к CD39 («CD39 TX»). Опухоль-ассоциированные макрофаги были идентифицированы из набора данных scRNAseq на основе экспрессии антигена F4/80. Анализ дифференциальной экспрессии был выполнен с использованием анализа обогащения по функциональной принадлежности (GSEA) и наборов генов фенотипических признаков (полученных путем агрегации нескольких наборов генов в GSEA для демонстрации четко определенных биологических состояний; см. в интернете по адресу gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/collection.jsp#H) для ранжирования генов, более высоко экспрессируемых в группе антитела к CD39 мыши и группе изотипического контроля. Наиболее обогащенные гены на основе оценки обогащения (ES) были связаны с повышенным IFN γ ответом (Фиг. 23А). Р-значение = 0,0. FDR, q-значение= 0,005. Клетки кластеризовали с использованием алгоритма уменьшения размерности UMAP, в результате чего получили примерно 20 различных популяций (Фиг. 23В).

[0057] На **Фиг. 24** показана оценка сигнатуры IFN γ в опухоли-ассоциированных макрофагах после обработки антителом изотипического контроля, антителом к CD39 мыши («CD39»), антителом к PD-1 мыши («PD1») или антителом к CD39 мыши + антителом к PD-1 мыши («комбо»). Опухоль-ассоциированные макрофаги были идентифицированы из набора данных scRNAseq на основе экспрессии антигена F4/80. Баллы для сигнатуры IFN γ рассчитывали, принимая среднее значение экспрессии сигнатурных генов IFN γ в кластере клеток, идентифицированных как макрофаги, на основе экспрессии F4/80.

[0058] На **Фиг. 25** показана частота встречаемости типов клеток, инфильтрирующих в ТМЕ мышей СТ26, получавших лечение антителом изотипического контроля, антителом к CD39 мыши («CD39»), антителом к PD-1 мыши («PD1») или антителом к CD39 мыши + антителом к PD-1 мыши («Комбо») с использованием анализа методом scRNAseq. Частота для кластера каждого типа клеток показана как кратное изменение среднего кратного изменения для группы изотипического контроля.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

II. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0059] В данной заявке применение «или» означает «и/или», если не указано иное. В контексте пункта патентной формулы, зависящего от другого зависимого пункта, использование «или» отсылает к более чем одному предыдущему независимому или зависимому пункту формулы изобретения только в качестве альтернативы. Термины «содержащий», «включающий» и «имеющий» могут использоваться взаимозаменяемо в данном документе.

[0060] Термин «CD39» относится к полипептиду эктонуклеозидтрифосфатдифосфолидролазы-1, кодируемому у человека геном *ENTPDI*. Другие названия для CD39 включают ENTPD1, E-NTPDase1, кластер дифференцировки 39, ATPDase, NTPDase-1 и SPG64. CD39 катализирует гидролиз γ - и β -фосфатных остатков внеклеточных нуклеозидтрифосфатов (НТФ; например, аденозинтрифосфат или АТФ) и нуклеозиддифосфатов (НДФ; например, аденозиндифосфат или АДФ), превращая эти молекулы в нуклеозидмонофосфат (НМФ; например, производное аденозинмонофосфата или АМФ). Примерная аминокислотная последовательность CD39 находится в эталонной последовательности NCBI: NP_001767.3.

[0061] «Аффинность» относится к силе суммарного количества нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (*например*, антитела) и ее партнером по связыванию (*например*, антигеном). Если не указано иное, в контексте данного документа «аффинность связывания» относится к действительной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие в соотношении 1:1 между членами связывающей пары (*например*, антителом и антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно может быть представлена константой диссоциации (K_D). Аффинность можно измерить с помощью общепринятых в данной области техники способов, в том числе тех, которые описаны в данном документе. Конкретные иллюстративные и типичные варианты осуществления изобретения, относящиеся к измерению аффинности связывания, описаны далее.

[0062] Антитело с «созревшей аффинностью» относится к антителу с одним или более изменениями в одной или более гипервариабельных областях (HVR) по сравнению с исходным антителом, которое не имеет таких изменений, при этом такие изменения необязательно приводят к повышению аффинности антитела к антигену.

[0063] Используемый в данном документе термин «антагонист» относится к ингибитору целевой молекулы и может использоваться в данном документе как синоним термина «ингибитор». Антагонисты включают, но не ограничиваются ими, антитела (*например*, моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела, биспецифические антитела и фрагменты антител), лиганды, слитые белки, малые молекулы, поливалентные агенты и другие антагонистические/ингибирующие агенты.

[0064] Термин «антитело» в данном документе используется в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая, помимо прочего, моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела (*например*, биспецифические антитела) и фрагменты антител, если они проявляют желаемую антигенсвязывающую активность.

[0065] «Фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая включает часть интактного антитела, которая связывает антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, диатела; линейные антитела; молекулы одноцепочечных антител (*например*, scFv); и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[0066] Термин «блокировать» в контексте взаимодействия между двумя или более молекулами используется в данном документе для обозначения ингибирования или предотвращения указанного взаимодействия между двумя или более молекулами, при этом ингибирование или предотвращение указанного взаимодействия между двумя или более молекулами является полным или почти полным по меньшей мере при одном условии. «Почти полное» ингибирование - это процентное ингибирование примерно на 70-99,9%, а «полное» ингибирование составляет 100%. *Например*, говорят, что молекула «блокирует» взаимодействие между двумя или более другими молекулами, если она полностью или почти полностью ингибирует такое взаимодействие при определенных концентрациях дозозависимым образом.

[0067] Термин «злокачественное новообразование» применяют в данном документе для обозначения группы клеток, которые демонстрируют аномально высокие уровни пролиферации и роста. Злокачественное новообразование может быть доброкачественным (также называемым доброкачественной опухолью), предраковым или злокачественным. Раковые клетки могут представлять собой солидные раковые клетки или лейкозные раковые клетки. Термин «опухоль» используется в данном документе для обозначения клетки или клеток, которые включают злокачественное новообразование. Термин «рост опухоли» используется в данном документе для обозначения пролиферации или роста клетки или клеток, которые

включают злокачественное новообразование, что приводит к соответствующему увеличению размера или степени злокачественного новообразования.

[0068] Термин «химерное» антитело относится к антителу, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи получена из конкретного источника или вида, в то время как остаток тяжелой и/или легкой цепи получен из другого источника или вида.

[0069] «Класс» антитела относится к типу константного домена или константной области, содержащейся в его тяжелой цепи. Есть пять основных классов антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на подклассы (изотипы), *например*, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. Константные домены тяжелой цепи, которые соответствуют различным классам иммуноглобулинов, называются α , δ , ϵ , γ и μ , соответственно.

[0070] Введение «в комбинации с» одним или более дополнительными терапевтическими средствами включает одновременное (параллельное) и последовательное (непрерывное) введение в любом порядке.

[0071] Используемый в данном документе термин «цитотоксический агент» относится к веществу, которое ингибирует или предотвращает клеточную функцию и/или вызывает гибель или разрушение клеток. Цитотоксические агенты включают радиоактивные изотопы (*например*, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² и радиоактивные изотопы Lu); химиотерапевтические агенты или лекарственные препараты (*например*, метотрексат, адриамицин, алкалоиды барвинка (винкристин, винбластин, этопозид), доксорубинин, мелфалан, митоминин С, хлорамбуцил, даунорубинин или другие интеркалирующие агенты); агенты, ингибирующие рост; ферменты и их фрагменты, такие как нуклеолитические ферменты; антибиотики; токсины, такие как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, включая их фрагменты и/или варианты; и различные противоопухолевые или противораковые средства, описанные ниже, но не ограничиваются ими.

[0072] «Эффекторная функция» относится к биологической активности, присущей области Fc антитела, которая варьируется в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают: связывание C1q и комплемент-зависимую цитотоксичность (КЗЦ); связывание с Fc-рецептором; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); фагоцитоз; подавление рецепторов клеточной поверхности (*например*, рецептор В-клеток); и активация В-клеток.

[0073] «Эффективное количество» агента, *например* фармацевтического состава, относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата.

[0074] Термин «область Fc» в данном документе используется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Данный термин включает нативные последовательности областей Fc и варианты областей Fc. В некоторых вариантах осуществления область Fc тяжелой цепи IgG человека простирается от Cys226 или от Pro230 до карбоксильного конца тяжелой цепи. Однако C-концевой лизин (Lys447) области Fc может присутствовать, а может и не присутствовать (нумерация в этом абзаце соответствует системе нумерации EU, также называемой индексом EU, как описано в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991).

[0075] «Каркас», «каркасная область» или «FR» относится к остаткам варибельного домена, отличным от остатков гиперварибельной области (HVR). FR варибельного домена обычно состоит из четырех доменов FR: FR1, FR2, FR3 и FR4. Соответственно, последовательности HVR и FR обычно

появляются в следующей последовательности в VH (или VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0076] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» и «целое антитело» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения антитела, имеющего структуру, по существу аналогичную структуре нативного антитела, или имеющего тяжелые цепи, которые содержат область Fc, как определено в данном документе.

[0077] Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» и «трансформированные клетки», которые включают первичную трансформированную клетку и потомство, полученное от нее, независимо от количества пассажей. Потомство может не быть полностью идентичным по содержанию нуклеиновой кислоты родительской клетке и может содержать мутации. В данный документ включены мутантные потомки, которые обладают той же функцией или биологической активностью, что и проверенная или отобранная первоначально трансформированная клетка.

[0078] «Антитело человека» представляет собой антитело, которое имеет аминокислотную последовательность, которая соответствует таковой антитела, продуцируемого у человека или клеткой человека, или полученного из источника, отличного от человека, который использует репертуары человеческих антител или другие последовательности, кодирующие антитела человека. Из этого определения антитела человека, в частности, исключено гуманизованное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки нечеловеческого происхождения.

[0079] Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи (VH и VL, соответственно) нативного антитела обычно имеют сходные структуры, причем каждый домен включает четыре консервативные каркасные области (FR) и три гипервариабельные области (HVR). (См., например, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007).) Одного домена VH или VL может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с использованием домена VH или VL из антитела, связывающего антиген, для скрининга библиотеки комплементарных доменов VL или VH, соответственно. См., например, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991).

[0080] «Консенсусная каркасная область человека» представляет собой каркасную область, которая содержит наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки при выборе последовательностей каркасной области VL или VH иммуноглобулина человека. Как правило, последовательности VL или VH иммуноглобулина человека выбирают из последовательностей подгруппы вариабельных доменов. Как правило, подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу по классификации Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. В некоторых вариантах осуществления для VL подгруппа представляет собой подгруппу каппа I согласно Kabat et al., выше. В некоторых вариантах осуществления для VH подгруппа представляет собой подгруппу III, согласно Kabat et al. выше.

[0081] Термин «гипервариабельная область» или «HVR» в контексте настоящего описания относится к каждой из областей вариабельного домена антитела, которые являются гипервариабельными по последовательности («определяющие комплементарность области» или «CDR») и/или образуют структурно определенные петли («гипервариабельные области») и/или содержат остатки, контактирующие с антигеном

(«контакты антигена»). Как правило, антитела содержат шесть HVR: три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3).

[0082] «Иммуноконъюгат» представляет собой антитело, конъюгированное с одной или более гетерологичными молекулами, включая цитотоксический агент, но не ограничиваясь им.

[0083] «Человек» или «субъект» представляют собой млекопитающее. Млекопитающие включают домашних животных (*например*, коров, овец, кошек, собак и лошадей), приматов (*например*, людей и отличных от человека приматов, таких как обезьяны), кроликов и грызунов (*например*, мышей и крыс), но не ограничиваются ими. В определенных вариантах осуществления индивидуум или субъект представляет собой человека.

[0084] Увеличение «гамма-интерферонового ответа», или «IFN γ ответа», или «IFN- γ ответа» относится к любому увеличению активности, связанной с цитокином IFN γ , и включает, например, увеличение белка IFN γ (например, присутствующего в TME, секретируемого из клетки или обнаруживаемого внутриклеточно), увеличение экспрессии гена IFN γ в клетке (например, путем измерения уровней мРНК), увеличение экспрессии генов, связанных с IFN γ , (например, путем измерения уровней мРНК) (например, гены, связанные с IFN γ , включают, например, гены, перечисленные в таблице 3). Увеличение может быть обнаружено в образце от индивидуума после введения терапии, например, по сравнению с образцом от не получавшего лечение индивидуума. В некоторых вариантах осуществления увеличение может быть обнаружено в образце от индивидуума после применения первой и второй терапии, например, по сравнению с образцом от индивидуума после применения только первой или второй терапии.

[0085] «Инфильтрация» иммунных клеток (например, клеток врожденного иммунитета) относится к увеличению количества иммунных клеток, обнаруживаемых в определенном месте (например, в опухолевом микроокружении). Инфильтрацию можно обнаружить, например, путем измерения количества иммунных клеток (например, по типу клеток) в образце от индивидуума после введения терапии, например, по сравнению с образцом от не получавшего лечение индивидуума. В некоторых вариантах осуществления инфильтрация может быть обнаружена, например, путем измерения количества иммунных клеток (например, по типу клеток) в образце от индивидуума после применения первой и второй терапии, например, по сравнению с образцом от индивидуума после применения только первой или второй терапии. Стандартные методы могут использоваться для обнаружения инфильтрации иммунных клеток, включая, например, проточную цитометрию клеток, выделенных из опухолевого микроокружения, измерение экспрессии генов клеток, выделенных из микроокружения опухоли, для дифференциальной экспрессии маркеров иммунных клеток или иммуногистохимическое окрашивание образцов опухоли.

[0086] «Выделенное» антитело представляет собой антитело, которое было отделено от компонента его естественного окружения. В некоторых вариантах осуществления антитело является очищенным до более чем 95 % или 99 % чистоты, определяемой, например, посредством электрофореза (*например*, ДСН-ПААГ-электрофореза, изоэлектрического фокусирования (ИЭФ), капиллярного электрофореза) или методом хроматографии (*например*, ионообменной или обращенно-фазовой ВЭЖХ). Для обзора методов оценки чистоты антител см., *например*, Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007).

[0087] Термин «моноклональное антитело» в контексте настоящего описания относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны и/или связываются с одним и тем же эпитопом, за исключением возможных вариантных антител, *например*, содержащих встречающиеся в природе мутации или возникающих во время получения препарата моноклонального антитела, такие варианты обычно присутствуют в незначительных

количествах. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые, как правило, содержат различные антитела против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело из препарата моноклонального антитела направлено против одной детерминанты антигена. Таким образом, определитель «моноклональное» указывает на характер антитела как полученного из по существу гомогенной популяции антител и не должен толковаться как требующий получения антитела каким-либо конкретным методом. Например, моноклональные антитела для использования согласно настоящему изобретению можно получить с помощью различных способов, включая, без ограничений, метод гибридомы, методы рекомбинантных ДНК, методы фагового дисплея и способы с использованием трансгенных животных, полностью или частично содержащих локусы человеческого иммуноглобулина, причем такие способы и другие иллюстративные способы получения моноклональных антител описаны в данном документе.

[0088] «Чистое антитело» относится к антителу, которое не конъюгировано с гетерологичным фрагментом (*например*, цитотоксическим фрагментом) или радиоактивной меткой. Голое антитело может присутствовать в фармацевтическом составе.

[0089] «Нативные антитела» относятся к природным молекулам иммуноглобулинов с различными структурами. Например, нативные антитела IgG представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины с молекулярной массой около 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких цепей и двух идентичных тяжелых цепей, соединенных дисульфидными связями. В направлении от N- к C-концу каждая тяжелая цепь имеет переменную область (VH), также называемую переменным тяжелым доменом или переменным доменом тяжелой цепи, за которым следуют три константных домена (CH1, CH2 и CH3). Аналогичным образом в направлении от N- к C-концу каждая легкая цепь имеет переменную область (VL), которая также называется переменным легким доменом или переменным доменом легкой цепи, за которым следует константный домен легкой цепи (CL). В зависимости от аминокислотной последовательности своего константного домена легкую цепь антитела можно отнести к одному из двух типов, называемых каппа (κ) и лямбда (λ).

[0090] «Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» по отношению к эталонной полипептидной последовательности определяется как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в эталонной полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения пробелов при необходимости для достижения максимального процента идентичности последовательностей, но без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения процента идентичности аминокислотных последовательностей может осуществляться различными способами, которые известны специалистам в данной области техники, например, с использованием общедоступных компьютерных программ, таких как программные обеспечения BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Однако для целей данного изобретения значения % идентичности аминокислотных последовательностей генерируются с использованием компьютерной программы сравнения последовательностей ALIGN-2. Компьютерная программа для выравнивания последовательностей ALIGN-2 была разработана Genentech, Inc., а исходная программа была подана вместе с документацией пользователя в Бюро регистрации авторских прав США, Вашингтон, округ Колумбия, 20559, где она зарегистрирована под номером регистрации авторского права США TXU510087. Программа ALIGN-2 находится в свободном доступе в Genentech, Inc., Южный Сан-

Франциско, штат Калифорния, или ее можно скомпилировать из исходного кода. Для применения в операционной системе UNIX, включающей цифровую версию UNIX V4.0D, программу ALIGN-2 нужно скомпилировать. Все параметры сравнения последовательностей устанавливаются программой ALIGN-2 и остаются неизменными.

[0091] В тех случаях, когда для сравнения аминокислотных последовательностей используется ALIGN-2, % идентичности аминокислотной последовательности данной аминокислотной последовательности A к, с, или по отношению к данной аминокислотной последовательности B (что в альтернативном варианте может быть сформулировано как данная аминокислотная последовательность A, которая имеет или содержит определенный % идентичности аминокислотной последовательности к, с или по отношению к данной аминокислотной последовательности B) рассчитывают следующим образом:

100 умножить на соотношение X/Y

, где X представляет собой число аминокислотных остатков, оцененных программой выравнивания последовательностей ALIGN-2 как идентичные совпадения при программном выравнивании A и B, и где Y представляет общее количество аминокислотных остатков в B. Следует понимать, что там, где длина аминокислотной последовательности A не равняется длине аминокислотной последовательности B, % идентичности аминокислотной последовательности A к B не будет равен % идентичности аминокислотной последовательности B к A. Если специально не указано иное, все значения % идентичности аминокислотных последовательностей, которые используются в данном документе, получают, как описано в предыдущем абзаце с использованием компьютерной программы ALIGN-2.

[0092] Термин «фармацевтический состав» или «фармацевтическая композиция» относится к препарату, который находится в такой форме, чтобы обеспечить эффективность биологической активности содержащегося в нем активного ингредиента, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет вводиться состав.

[0093] «Фармацевтически приемлемый носитель» относится к ингредиенту в фармацевтическом составе или композиции, отличному от активного ингредиента, который нетоксичен для субъекта. Фармацевтически приемлемый носитель включает, без ограничения, буфер, эксципиент, стабилизатор или консервант.

[0094] Используемый в данном документе термин «рефрактерный» относится к злокачественному новообразованию, которое не ответило на предыдущее лечение. Рефрактерное злокачественное новообразование включает злокачественное новообразование, которое имеет недостаточный ответ, частичный ответ или прогрессирует на предшествующее лечение, например, предшествующее лечение иммуноонкологическим или иммунотерапевтическим препаратом, например, блокирующим CTLA-4 или PD-1 антителом. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является рефрактерным или резистентным к предшествующему лечению, либо по своей природе рефрактерным, либо резистентным (например, рефрактерным к антагонисту пути PD-1), или при котором приобретает резистентное или рефрактерное состояние. Используемый в данном документе термин «рецидивирующее» относится к рецидиву злокачественного новообразования у субъекта. В контексте данного документа термин «метастатическая» относится к раковой клетке, которая изменила положение с того места, где она началась, например, распространение злокачественного новообразования из первичного очага в другое место в организме. Используемый в данном документе термин «распространенное» относится к злокачественное

новообразование, которое вряд ли можно вылечить или контролировать с помощью лечения.

[0095] Используемый в данном документе термин «лечение» (и его грамматические вариации, такие как «лечить» или «лечение») относится к клиническому вмешательству в попытке изменить естественное течение болезни у индивидуума, проходящего лечение, и может проводиться либо для профилактики, либо во время курса клинической патологии. Желаемые эффекты лечения включают предотвращение возникновения или рецидива заболевания, облегчение симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или временное облегчение патологического состояния, и ремиссию или улучшенный прогноз, но не ограничиваются ими. В некоторых вариантах осуществления раскрытые антитела используются для задержки развития заболевания или для замедления прогрессирования заболевания.

[0096] В контексте данного документа термин «вектор» относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной обеспечивать репродукцию другой нуклеиновой кислоты, связанной с ней. Термин включает вектор как самореплицирующуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, который включен в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы в данном документе называют «векторами экспрессии».

III. КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ

[0097] Предложены антитела к CD39, композиции, содержащие описанные антитела, и способы их применения.

A. Типичные антитела к CD39

[0098] В таблице последовательностей ниже представлены последовательности определенных вариантов осуществления антител, описанных и заявленных в данном документе.

[0099] В определенных вариантах осуществления предложены выделенные антитела, которые связываются с CD39.

[00100] В данном документе предложены выделенные антитела, которые специфически связываются с CD39.

[00101] В некоторых вариантах осуществления антитела связываются с CD39 человека.

[00102] В некоторых вариантах осуществления антитела связываются с CD39 и ингибируют его. В некоторых вариантах осуществления предложены антитела к CD39, которые снижают или ингибируют ферментативную активность CD39 человека. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 связываются с рекомбинантным CD39 и/или с мембраносвязанным CD39 человека. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 связываются с CD39 человека с равновесной константой диссоциации (K_D) менее 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D для связывания с CD39 человека составляет около 1,11 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитела связываются с CD39 человека и CD39 яванского макака, но не связываются с CD39 мыши или CD39 крысы. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 ингибируют или снижают превращение CD39 человека внеклеточного аденозинтрифосфата (вАТФ) или внеклеточного аденозиндифосфата (вАДФ) во внеклеточный аденозинмонофосфат (вАМФ). В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 увеличивают количество вАТФ. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 снижают или уменьшают количество внеклеточного аденозина. В некоторых

вариантах осуществления антитела к CD39 поддерживают, повышают или усиливают иммуностимулирующий уровень вАТФ. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 антагонизируют CD39 человека в опухолевом микроокружении ткани. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 перекрестно реагируют с CD39 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 увеличивают или усиливают пролиферацию лимфоцитов. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD39 увеличивают или усиливают инфильтрацию макрофагов в опухоли. В некоторых вариантах осуществления антитела связываются с CD39 и ингибируют CD39 в нормальной или раковой ткани. В некоторых вариантах осуществления ткань находится в матке, шейке матки, легком, предстательной железе, молочной железе, голове, шее, толстой кишке или яичнике. В некоторых вариантах осуществления ткань находится в матке. В некоторых вариантах осуществления в матке антитела ингибируют CD39 в миометрии.

[00103] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит вариабельную область тяжелой цепи («VH»), содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH любого из антител к CD39, представленных в данном документе (т.е. клоны антител с номерами 1-22).

[00104] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH любого из антител к CD39, представленных в данном документе, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 любого из антител к CD39, представленных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH любого одного из клонов антитела с номерами 1-22, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VL любого из клонов с номерами 1-22, где необязательно CDR VH и VL получены из одного и того же клона антитела.

[00105] В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, содержащие следующее:

- (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; с или без (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; или
- (b) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103; с или без (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; или
- (c) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 201; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 203; с или без (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 204; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 205; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206; или
- (d) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 301; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 302; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 303; с или без (d) LCDR1, содержащую

последовательность SEQ ID NO: 8004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8006; или

- (s) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9006; или
- (t) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10006; или
- (u) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20006; или
- (v) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30006.

[00106] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL любого из антител к CD39, представленных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VL, содержащую VL CDR1, CDR2 и CDR3 любого из клонов антител с номерами 1-22.

[00107] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 может содержать:

- (a) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 1, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 1; или
- (b) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 2, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 2; или
- (c) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 3, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 3; или
- (d) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 4, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 4; или
- (e) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 5, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 5; или

- (f) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 6, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 6; или
- (g) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 7, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 7; или
- (h) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 8, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 8; или
- (i) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 9, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 9; или
- (j) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 10, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 10; или
- (k) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 11, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 11; или
- (l) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 12, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 12; или
- (m) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 13, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 13; или
- (n) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 14, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 14; или
- (o) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 15, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 15; или
- (p) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 16, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 16; или
- (q) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 17, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 17; или
- (r) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 18, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 18; или
- (s) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 19, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 19; или
- (t) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 20, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 20; или
- (u) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 21, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 21; или
- (v) VH, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH клона антитела номер 22, и VL, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 VL клона антитела номер 22.

[00108] В приведенной ниже таблице последовательностей представлены последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепей определенных описанных антител.

[00109] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH любого из антител к CD39, представленных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH любого из клонов антител с номерами 1-22.

[00110] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH любого из клонов антител с номерами 1-22, но с 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами вне определяющих

комплементарность областей (CDR), например 1, 2, 3, 4 или 5 консервативными заменами вне CDR. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH любого из клонов антител с номерами 1-22, но с 1, 2, 3, 4 или 5 реверсивными заменами вне определяющих комплементарность областей (CDR).

[00111] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH любого из клонов антител с номерами 1-22, но с 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами в каркасных областях последовательности VH, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативными заменами. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH любого из клонов антител с номерами 1-22, но с 1, 2, 3, 4 или 5 реверсивными заменами в каркасных областях последовательности VH.

[00112] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 содержит CDR VH и VL любого из антител к CD39, описанных в данном документе, при этом каждая CDR содержит 0, 1, 2 или 3 аминокислотных добавления, замены (например, консервативные замены) или делеции.

[00113] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности CDR VH любого из антител к CD39, представленных в данном документе, и содержит VH, 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 VH любого из представленных в данном документе антител к CD39. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96 %, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или на по меньшей мере 99% идентична аминокислотной последовательности VH любого из клонов антител с номерами 1-22. В определенных вариантах осуществления VH антитела отличается от VH последовательностей, показанных в Таблице последовательностей, из-за 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен в каркасных областях последовательности VH, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен. В определенных вариантах осуществления VH антитела отличается от VH последовательностей, показанных в Таблице последовательностей, из-за 1, 2, 3, 4 или 5 реверсивных замен в каркасных областях последовательности VH.

[00114] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH любого из антител к CD39, представленных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, которая состоит из аминокислотной последовательности VH любого из клонов антитела с номерами 1-22.

[00115] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность VL любого из антител к CD39, представленных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность VL любого из клонов антител с номерами 1-22. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности CDR VL любого из антител к CD39, представленных в данном документе, и содержит VL, которая на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или на по меньшей мере 99% идентична VL любого из предложенных в данном документе антител к CD39. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96 %, по

меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или на по меньшей мере 99% идентична аминокислотной последовательности VL любого из клонов антител с номерами 1-22. В определенных вариантах осуществления VL антитела отличается от VL последовательностей, показанных в Таблице последовательностей, из-за 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен в каркасных областях последовательности VL, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен. В определенных вариантах осуществления VL антитела отличается от VL последовательностей, показанных в Таблице последовательностей, из-за 1, 2, 3, 4 или 5 реверсивных замен.

[00116] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL любого из антител к CD39, представленных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VL, которая состоит из аминокислотной последовательности VL любого из клонов антитела с номерами 1-22.

[00117] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH любого из представленных в данном документе антител к CD39, и содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность VL любого из тех же антител к CD39, представленных в данном документе. В некоторых из этих вариантов осуществления антитело к CD39 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность VH любого из клонов антитела с номерами 1-22, и VL, содержащую аминокислотную последовательность VL любого из клонов антител с номерами 1-22, необязательно при этом VH и VL относятся к одному и тому же номеру клона антитела.

[00118] В определенных вариантах осуществления VH антитела представляет собой VH любого из клонов антител с номерами 1-22, но с 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами в каркасных областях последовательности VH, таких как 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замены, а VL представляет собой VL любого из тех же антител из перечня выше. Однако в определенных вариантах осуществления VH антитела представляет собой VH любого из клонов антител с номерами 1-22, но с 1, 2, 3, 4 или 5 заменами в каркасных областях последовательности VH.

[00119] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH и VL, содержащие аминокислотные последовательности VH и VL любого из клонов антител с номерами 1-22.

[00120] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности CDR VH любого из антител к CD39, представленных в данном документе, а также CDR1, CDR2 и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности CDR VL любого из представленных в данном документе антител к CD39, а также содержит VH и VL, каждая из которых на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или на по меньшей мере 99% идентична соответствующим VH и VL любого из представленных в данном документе антител к CD39. В определенных вариантах осуществления VH и VL антитела отличаются от последовательностей VH и VL, показанных в Таблице последовательностей, из-за 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен в каркасных областях последовательностей, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен или таких как 1, 2, 3, 4 или 5 реверсивных замен.

[00121] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH и VL, состоящие из аминокислотной последовательности VH и VL любого из антител к CD39, представленных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит VH и VL, каждая из которых состоит из аминокислотных последовательностей VH и VL любого из клонов антител с номерами 1-22.

- (q) VH, содержащую CDR VH клона антитела номер 17, и VL, содержащую CDR VL клона антитела номер 17, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые 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% идентичны VH и VL клона антитела номер 17; или
- (r) VH, содержащую CDR VH клона антитела номер 18, и VL, содержащую CDR VL клона антитела номер 18, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые 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% идентичны VH и VL клона антитела номер 18; или
- (s) VH, содержащую CDR VH клона антитела номер 19, и VL, содержащую CDR VL клона антитела номер 19, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые 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% идентичны VH и VL клона антитела номер 19; или
- (t) VH, содержащую CDR VH клона антитела номер 20, и VL, содержащую CDR VL клона антитела номер 20, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые 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% идентичны VH и VL клона антитела номер 20; или
- (u) VH, содержащую CDR VH клона антитела номер 21, и VL, содержащую CDR VL клона антитела номер 21, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые 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% идентичны VH и VL клона антитела номер 21; или
- (v) VH, содержащую CDR VH клона антитела номер 22, и VL, содержащую CDR VL клона антитела номер 22, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые 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% идентичны VH и VL клона антитела номер 22.

[00124] В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления VH и/или VL могут отличаться от последовательности каждого из видов наличием 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен. В некоторых вариантах осуществления VH может содержать 1, 2, 3, 4 или 5 реверсивных замен.

[00125] Антитело к CD39 может содержать:

- (a) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 1, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 1; или
- (b) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 2, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 2; или
- (c) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 3, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 3; или
- (d) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 4, и VL,

- состоящую из VL клона антитела номер 4; или
- (e) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 5, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 5; или
 - (f) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 6, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 6; или
 - (g) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 7, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 7; или
 - (h) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 8, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 8; или
 - (i) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 9, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 9; или
 - (j) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 10, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 10; или
 - (k) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 11, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 11; или
 - (l) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 12, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 12; или
 - (m) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 13, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 13; или
 - (n) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 14, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 14; или
 - (o) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 15, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 15; или
 - (p) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 16, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 16; или
 - (q) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 17, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 17; или
 - (r) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 18, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 18; или
 - (s) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 19, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 19; или
 - (t) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 20, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 20; или
 - (u) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 21, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 21; или
 - (v) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH клона антитела номер 22, и VL, состоящую из VL клона антитела номер 22.

[00126] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 содержит любую из переменных областей и/или CDR 1-3 переменной области антител, описанных выше и в других местах в данном документе, например, в Таблице последовательностей.

[00127] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 представляет собой антитело IgG, такое как антитело IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, или его модифицированную форму, как описано в разделе

[00132] В определенных вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, представляет собой фрагмент антитела. Фрагменты антител включают, без ограничений, фрагменты Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv и scFv и другие фрагменты, описанные ниже. Для обзора некоторых фрагментов антител см. Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Для обзора фрагментов scFv см. *например*, Pluckthün, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); см. также WO 93/16185; и патенты США № 5571894 и 5587458. Обсуждения фрагментов Fab и F(ab')₂, содержащих остатки эпитопа, связывающего рецептор реутилизации, и имеющих увеличенный период полужизни *in vivo*, приведены в патенте США № 5869046.

[00133] Диатела представляют собой фрагменты антител с двумя антигенсвязывающими сайтами, которые могут быть бивалентными или биспецифическими. См., *например*, EP 404097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); и Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993). Триатела и тетраатела также описаны в Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003).

[00134] Однодоменные антитела представляют собой фрагменты антител, содержащие весь или часть варибельного домена тяжелой цепи или весь или часть варибельного домена легкой цепи антитела. В определенных вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой однодоменное антитело человека (Domantis, Inc., Уолтем, штат Массачусетс; см., *например*, патент США № 6248516 B1).

[00135] Фрагменты антител могут быть получены различными методами, включая, помимо прочего, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продукцию рекомбинантными клетками-хозяевами (*например*, *E. coli* или фагом), как описано в данном документе.

1. Полиспецифические антитела

[00136] В определенных вариантах осуществления антитело, представленное в данном документе, представляет собой полиспецифическое антитело, *например* биспецифическое антитело. Полиспецифические антитела представляют собой моноклональные антитела, которые имеют специфичности связывания в отношении по меньшей мере двух различных сайтов. В определенных вариантах осуществления одна из специфичностей связывания относится к CD39, а другая - к любому другому антигену. В определенных вариантах осуществления одна из специфичностей связывания относится к CD39, а другая независимо выбрана из одного (в случае биспецифического) или более (в случае полиспецифического) из PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, A2AR, A2BR, двойного A2AR/A2BR, CD40, CD73, TIGIT, CD112R, CD96, PVRL1, PVRL2, PVRL3, PVRL4, CD155, STING, CD47, и IL-27. В определенных вариантах осуществления биспецифические антитела могут связываться с двумя разными эпитопами CD39. Биспецифические антитела также можно использовать для локализации цитотоксических агентов в клетках, экспрессирующих CD39. Биспецифические антитела можно получить в виде полноразмерных антител или фрагментов антител.

[00137] Методы получения полиспецифических антител включают рекомбинантную коэкспрессию двух пар тяжелая цепь-легкая цепь иммуноглобулина, имеющих разные специфичности (см. Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829, и Traunecker et al., *EMBO J.* 10: 3655 (1991)), и конструирование «выступ-во-впадину» (см., *например*, Патент США № 5731168), но не ограничиваются ими. Полиспецифические антитела также могут быть получены путем создания электростатических стерических эффектов для создания Fc-гетеродимерных молекул антитела (WO 2009/089004 A1); перекрестного сшивания двух или более антител или фрагментов (см., *например*, патент США № 4676980 и Brennan et al., *Science*, 229: 81 (1985)); использования лейциновых застежек для выработки биспецифических антител (см., *например*, Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)); использования технологии «диател» для получения

фрагментов биспецифических антител (см., *например*, Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)); и использования одноцепочечных димеров Fv (sFv) (см., *например*, Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)); и получение триспецифических антител, как описано, *например*, в Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

[00138] Сконструированные антитела с тремя или более функциональными антигенсвязывающими сайтами, включая «антитела-осьминоги», также включены в данный документ (см., *например*, US 2006/0025576A1).

[00139] Антитело или фрагмент в данном документе также включает «Fab двойного действия» или «DAF», содержащий антигенсвязывающий сайт, который связывается с CD39, а также с другим, отличным антигеном (см., *например*, US 2008/0069820).

2. Варианты антител

[00140] В определенных вариантах осуществления предложены варианты аминокислотной последовательности антител, представленных в данном документе. Например, может быть желательно улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств антитела. Варианты аминокислотных последовательностей антитела можно получить путем внесения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, *например*, делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Любая комбинация делеции, вставки и замены может быть использована для получения конечной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками, *например*, антигенсвязывающими характеристиками.

3. Варианты замены, вставки и делеции

[00141] В определенных вариантах осуществления предложены варианты антител, содержащие одну или более аминокислотных замен. Сайты, представляющие интерес для замещающего мутагенеза, включают HVR и FR. Консервативные замены показаны в Таблице 1 как «иллюстративные замены». Аминокислотные замены можно вносить в представляющее интерес антитело, и проводить скрининг полученных продуктов в отношении необходимой активности, *например*, сохранения/улучшения связывания антигена, снижения иммуногенности или улучшения АЗКЦ или КЗЦ.

[00142] ТАБЛИЦА 1

Исходный Остаток	Иллюстративные замены	Консервативные замены
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg

Исходный Остаток	Иллюстративные замены	Консервативные замены
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Норлейцин	Leu

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

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

[00143] Неконсервативные замены повлекут за собой замену члена одного из этих классов на другой класс.

[00144] В HVR могут быть внесены изменения (*например*, замены), *например*, для повышения аффинности антитела. Такие изменения могут быть сделаны в «горячих точках» HVR, то есть в остатках, кодируемых кодонами, которые подвергаются мутации с высокой частотой в процессе соматического созревания (см., *например*, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), и/или остатках, которые контактируют с антигеном, при этом полученный вариант VH или VL тестируется на аффинность связывания. Созревание аффинности путем конструирования и повторного выбора из вторичных библиотек описано, *например*, в Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). В некоторых вариантах осуществления созревание аффинности, разнообразие вводится в переменные гены, выбранные для созревания, любым из множества способов (*например*, подверженной ошибкам ПЦР, перетасовкой цепей или олигонуклеотид-направленным мутагенезом). Затем создается вторичная библиотека. Затем библиотека проверяется для выявления любых вариантов антител с желаемой аффинностью. Другой метод введения разнообразия включает подходы, направленные на HVR, в которых несколько остатков HVR (*например*, 4-6 остатков за раз) рандомизируются. Остатки HVR, участвующие в связывании антигена, могут быть специфически идентифицированы, *например*, с использованием аланин-сканирующего мутагенеза или моделирования. CDR-H3 и CDR-L3, в частности, часто становятся мишенью.

[00145] В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции могут происходить в

одной или более HVR, если такие изменения существенно не снижают способность антитела связывать антиген. Например, консервативные изменения (*например*, консервативные замены, как предусмотрено в данном документе), которые существенно не снижают аффинность связывания, могут быть внесены в HVR. Такие изменения могут, например, находиться за пределами контактирующих с антигеном остатков HVR. В некоторых вариантах осуществления вариантов последовательностей VH и VL, представленных выше, каждая HVR либо не изменена, либо содержит не более одной, двух или трех аминокислотных замен.

[00146] Применимый способ идентификации остатков или областей антитела, которые могут быть мишенями для мутагенеза, называется «аланин-сканирующий мутагенез», как описано в Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. В этом способе остаток или группа целевых остатков (*например*, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) идентифицируются и заменяются нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (*например*, аланином или полиаланином) для определения влияет ли это на взаимодействие антитела с антигеном. Дальнейшие замены могут быть введены в аминокислотные положения, демонстрирующие функциональную чувствительность к начальным заменам. Альтернативно или дополнительно, кристаллическая структура комплекса антиген-антитело может быть использована для определения точек контакта между антителом и антигеном. Такие контактные остатки и соседние остатки могут быть нацелены или исключены как кандидаты для замены. Варианты могут быть проверены, чтобы определить, содержат ли они желаемые свойства.

[00147] Вставки аминокислотной последовательности включают аминок- и/или карбокси-концевые слияния, имеющие длину в диапазоне от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или нескольких аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым остатком метионина. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом (*например*, ADEPT) или полипептидом, который увеличивает время полужизни антитела в сыворотке.

4. Варианты гликозирования

[00148] В определенных вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, изменено с целью увеличения или уменьшения степени гликозирования антитела. Добавление или удаление сайтов гликозирования к антителу может быть удобно выполнено путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, что создается или удаляется один или более сайтов гликозирования.

[00149] Если антитело содержит область Fc можно изменять присоединенный к ней углевод. Нативные антитела, продуцируемые клетками млекопитающих, как правило, содержат разветвленный биантеннальный олигосахарид, который обычно присоединяется посредством N-связи к Asn297 домена CH2 области Fc. См., например, Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997). Олигосахарид может содержать различные углеводы, *например*, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стволе» биантеннальной олигосахаридной структуры. В определенных вариантах осуществления можно выполнить модификации олигосахарида в антителе с целью создания вариантов антител с определенными улучшенными свойствами.

[00150] В некоторых вариантах осуществления представлены варианты антител, имеющие углеводную структуру, в которой отсутствует фукоза, присоединенная (прямо или косвенно) к области Fc. Например, количество фукозы в таком антителе может составлять от 1 % до 80 %, от 1 % до 65 %, от 5 % до 65 % или от 20 % до 40 %. Количество фукозы определяют, рассчитывая среднее количество фукозы в

сахарной цепи Asn297 относительно общего количества гликоструктур, присоединенных к Asn 297 (например, комплексных, гибридных или содержащих большое количество маннозы структур), согласно данным масс-спектрометрии MALDI-TOF, как описано, например, в WO 2008/077546. Asn297 относится к остатку аспарагина, расположенному в положении 297 в области Fc (согласно нумерации EU остатков области Fc); при этом Asn297 также может быть расположен на около ± 3 аминокислот выше или ниже положения 297, т.е. между положениями 294 и 300, вследствие незначительных вариаций последовательностей в антителах. Такие фукозилированные варианты могут обладать улучшенной функцией АЗКЦ. См., например, патентные публикации США № US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Примеры публикаций, относящихся к «дефукозилированным» или «дефицитным по фукозе» вариантам антител, включают: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Примеры линий клеток, способных вырабатывать дефукозилированные антитела, включают клетки CHO Lec13 с дефицитом фукозилирования белка (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); заявка на патент США № US 2003/0157108 A1, Presta, L; и WO 2004/056312 A1, Adams et al., особенно в примере 11), и линии клеток с нокаутом, таких как ген альфа-1,6-фукозилтрансферазы, *FUT8*, клетки с нокаутом CHO (см., например, Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); и WO 2003/085107).

[00151] Варианты антител дополнительно содержат олигосахариды, разделенные пополам, например, в которых биантеннальный олигосахарид, присоединенный к области Fc антитела, разделен пополам GlcNAc. Такие варианты антител могут иметь пониженное фукозилирование и/или улучшенную функцию АЗКЦ. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патенте США № 6 602 684 (Umana et al.); и US 2005/0123546 (Umana et al.). Также предложены варианты антител с по меньшей мере одним остатком галактозы в олигосахариде, присоединенном к области Fc. Такие варианты антител могут иметь улучшенную функцию КЗЦ. Такие варианты антител описаны, например, в WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

5. Варианты области Fc

[00152] В определенных вариантах осуществления в область Fc антитела, предложенного в данном документе, могут быть введены одна или более аминокислотных модификаций, тем самым обеспечивая создание варианта области Fc. Вариант области Fc может содержать последовательность области Fc человека (например, область Fc человеческого IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), содержащую аминокислотную модификацию (например, замену) в одном или более аминокислотных положениях.

[00153] В определенных вариантах осуществления данное изобретение обеспечивает вариант антитела, который обладает некоторыми, но не всеми эффекторными функциями, что делает его подходящим кандидатом для практических применений, в которых важное значение имеет период полужизни антитела *in vivo*, хотя отдельные эффекторные функции (такие как комплемент и АЗКЦ) не являются необходимыми или являются вредными. Цитотоксические анализы могут быть проведены *in vitro* и/или *in vivo* для подтверждения восстановления/ослабления активности КЗЦ и/или АЗКЦ. Например, могут быть проведены анализы связывания Fc-рецептора (FcR), чтобы убедиться, что у антитела отсутствует связывание с FcγR (следовательно, вероятно, не обладает активностью АЗКЦ), но сохраняется способность связывания с FcRn.

Первичные клетки для опосредования АЗКЦ экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Данные по экспрессии FcR на гемопоэтических клетках обобщены в таблице 3 на странице 464 публикации Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991). Неограничивающие примеры анализов *in vitro* для оценки активности АЗКЦ представляющей интерес молекулы описаны в патенте США № 5500362 (см., например, Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) и Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5821337 (см. Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)). В качестве альтернативы можно использовать методы нерадиоактивных анализов (см., например, анализ нерадиоактивной цитотоксичности АСТП™ для проточной цитометрии (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; и анализ нерадиоактивной цитотоксичности CytoTox 96® (Promega, Мэдисон, штат Висконсин). Эффекторные клетки, пригодные для такого анализа, включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) и натуральные клетки-киллеры (НК). В качестве альтернативы или дополнения, активность АЗКЦ молекулы, представляющей интерес, можно оценить *in vivo*, например, на животной модели, такой как описанная в публикации Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998). Также можно проводить анализ связывания C1q, чтобы подтвердить, что антитело неспособно связывать C1q и, следовательно, у него отсутствует активность КЗЦ. См., например, ИФА связывания C1q и C3c в WO 2006/029879 и WO 2005/100402. Для оценки активации комплемента может быть проведен анализ КЗЦ (см., например, Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); и Cragg, M.S. И M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)). Связывание FcRn и определение клиренса/периода полужизни *in vivo* также можно проводить с использованием способов, известных в данной области техники (см., например, Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)).

[00154] Антитела со сниженной эффекторной функцией включают те, которые содержат замены одного или более из остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 области Fc (патенты США № 6737056). Такие мутанты Fc включают мутантов Fc с заменами в двух или более аминокислотных положениях 265, 269, 270, 297 и 327, в том числе так называемые мутанты Fc "DANA" с заменой остатков 265 и 297 на аланин (патент США 7332581).

[00155] Описаны некоторые модификации антитела с улучшенным или уменьшенным связыванием с FcR. (См., например, патент США № 6737056; WO 2004/056312, и Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)).

[00156] В определенных вариантах осуществления вариант антитела содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами, которые улучшают АЗКЦ, например, заменами в положениях 298, 333 и/или 334 области Fc (нумерация остатков по EU).

[00157] В некоторых вариантах осуществления в область Fc вносятся изменения, которые приводят к измененному (*m.e.* улучшенному или ослабленному) связыванию C1q и/или комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ), например, как описано в патенте США № 6194551, WO 99/51642 и Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

[00158] Антитела с увеличенным периодом полужизни и улучшенным связыванием с неонатальным Fc-рецептором (FcRn), который отвечает за перенос материнских IgG к плоду (Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976) и Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994)), описаны в US 2005/0014934 A1 (Hinton et al.). Данные антитела содержат область Fc с одной или более заменами в ней, которые улучшают связывание области Fc с FcRn. Такие Fc-варианты включают варианты с заменами в одном или более остатках области Fc: 238, 252, 254, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 или 434, например,

заменой остатка 434 области Fc (например, Патент США № 7371826). См. также публикацию Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821; и международную патентную заявку WO 94/29351 в отношении других примеров вариантов Fc области.

[00159] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело в соответствии с Таблицей последовательностей, при этом его изотип представляет собой IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело в соответствии с Таблицей последовательностей, при этом его изотип представляет собой IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело в соответствии с Таблицей последовательностей, при этом его изотип представляет собой IgG4 человека, и при этом имеется единственная мутация в виде замены серина на пролин в положении 228 (S228P). В некоторых вариантах осуществления предложено антитело в соответствии с Таблицей последовательностей, где изотипом является человеческий IgG4, и при этом имеется две мутации: серин 228 на пролин (S228P) и лейцин 235 на глутамат (L235E). В литературе мутация S228P встречается в положении 228. Мутация S→P встречается в клонах 21 и 22 в положении 229, но все еще обозначается в данном документе как S228P. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 40002. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 40003.

6. Варианты антител, сконструированные с цистеином

[00160] В определенных вариантах осуществления может быть желательно создать сконструированные антитела с цистеином, например, «ТН10М-антитела», в которых один или более остатков антитела замещены остатками цистеина. В конкретных вариантах осуществления замещенные остатки находятся в доступных сайтах антитела. За счет замещения этих остатков цистеином реактивные тиоловые группы тем самым размещаются в доступных сайтах антитела и могут использоваться для конъюгирования антитела с другими фрагментами, такими как лекарственные фрагменты или линкер-лекарственные фрагменты, для создания иммуноконъюгата, как описано далее в данном документе. В определенных вариантах осуществления любой один или более из следующих остатков могут быть замещены цистеином: V205 (нумерация по Kabat) легкой цепи; A118 (нумерация EU) тяжелой цепи; и S400 (нумерация EU) области Fc тяжелой цепи. Сконструированные антитела с цистеином могут быть получены, как описано, например, в патенте США № 7521541.

7. Производные антител

[00161] В определенных вариантах осуществления антитело, представленное в данном документе, может быть дополнительно модифицировано, чтобы содержать дополнительные небелковые фрагменты, которые известны в данной области и легко доступны. Фрагменты, пригодные для получения производных антитела, включают, без ограничений, водорастворимые полимеры. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают, без ограничений, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1, 3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/маленинового ангидрида, полиаминокислоты (либо гомополимеры, либо статистические сополимеры), декстран или поли(п-винилпирролидон) полиэтиленгликоль, гомополимеры проприленгликоля, сополимеры оксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. Пропиональдегид полиэтиленгликоля может иметь преимущество при производстве вследствие его

стабильности в воде. Полимер может иметь любую молекулярную массу и может быть разветвленным или неразветвленным. Количество полимеров, присоединенных к антителу, может изменяться и, в случае присоединения более одного полимера, они могут представлять собой одинаковые или разные молекулы. В общем, количество и/или тип полимеров, используемых для дериватизации, может быть определено на основании соображений, включая конкретные свойства или функции антитела, подлежащего улучшению, будет ли производное антитело использоваться в терапии при определенных условиях и т.д., но не ограничиваясь ими.

[00162] В другом варианте осуществления предложены конъюгаты антитела и небелкового фрагмента, которые можно избирательно нагревать под воздействием излучения. В некоторых вариантах осуществления небелковый фрагмент представляет собой углеродную нанотрубку (Kam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). Излучение может иметь любую длину волны и включает, без ограничений, длины волн, которые не наносят вред обычным клеткам, но которые нагревают небелковый фрагмент до температуры, при которой клетки, расположенные близко к антитело-небелковому фрагменту, погибают.

В. Рекомбинантные методы

[00163] Антитела могут быть получены с использованием рекомбинантных методов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В некоторых вариантах осуществления предложена выделенная(-ые) нуклеиновая(-ые) кислота(-ы), кодирующая(-ие) описанное в данном документе антитело к CD39. Такая нуклеиновая(-ые) кислота(-ы) может (могут) кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В дополнительном варианте осуществления предложен один или более векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такую нуклеиновую(-ые) кислоту(-ы). В дополнительном варианте осуществления, предложена клетка-хозяин, содержащая такую(-ие) нуклеиновую(-ые) кислоту(-ы). В одном таком варианте осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована им): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин является эукариотической, например, клеткой яичника китайского хомячка (CHO) или лимфоидной клеткой (например, клеткой Y0, NS0, Sp20). В некоторых вариантах осуществления предложен способ получения антитела к CD39, где способ включает культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, как указано выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и необязательно выделение антитела из клетки-хозяина (или среды для культивирования клеток-хозяев).

[00164] Для получения рекомбинантного антитела к CD39 нуклеиновую(-ые) кислоту(-ы), кодирующую(-ие) антитело, например, как описано выше, выделяют и вставляют в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такая(-ие) нуклеиновая(-ые) кислота(-ы) может (могут) быть легко выделена и секвенирована с использованием общепринятых способов (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, которые кодируют тяжелые и легкие цепи антитела).

[00165] Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих

антитела, включают прокариотические или эукариотические клетки, описанные в данном документе. Например, антитела могут продуцироваться в бактериях, в частности, когда гликозилирование и эффекторная функция Fc не нужны. Для экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях см., например, патенты США № 5648237, 5789199 и 5840523. (См. также Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, описывающую экспрессию фрагментов антител в *E. coli*). После экспрессии антитело может быть выделено из биомассы бактериальных клеток в растворимой фракции и может быть дополнительно очищено.

[00166] Помимо прокариот, подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, являются эукариотические микроорганизмы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, включая штаммы грибов и дрожжей, чьи метаболические пути гликозилирования были «гуманизированы», что приводит к продукции антител с частично или полностью человеческим профилем гликозилирования. См. Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004) и Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

[00167] Клетки-хозяева, подходящие для экспрессии гликозилированного антитела, также можно получать из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые можно использовать в сочетании с клетками насекомых, в частности для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

[00168] Культуры клеток растений также могут быть использованы в качестве хозяев. См., например, патенты США № 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429 (описывающие технологию PLANTIBODIES™ для получения антител в трансгенных растениях).

[00169] В качестве хозяев также можно использовать клетки позвоночных. Например, можно использовать линии клеток млекопитающих, адаптированные для роста в суспензии. Другими примерами полезных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7); линия эмбриональных почек человека (клетки 293 или 293, как описано, например, в Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (ВНК); клетки почки новорожденного хомяка (клетки ТМ4, описанные, например, в Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой марышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); клетки опухоли молочной железы мыши (ММТ 060562); клетки TRI, как описано, например, в Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); клетки MRC 5; и клетки FS4. Другие применимые линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR⁺CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); и линии миеломных клеток, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Для обзора некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для продукции антител, см., например, Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

С. Иммуноконъюгаты

[00170] В изобретении также предложены иммуноконъюгаты, содержащие антитело к CD39, конъюгированное в данном документе с одним или более другими терапевтическими агентами или радиоактивными изотопами.

[00171] В другом варианте осуществления иммуноконъюгат содержит антитело, как описано в данном документе, конъюгированное с радиоактивным атомом с образованием радиоконъюгата. Для

производства радиоко́нъюгатов доступны различные радиоактивные изотопы. Примеры включают At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} и радиоактивные изотопы Lu. Когда радиоко́нъюгат используется для обнаружения, он может содержать радиоактивный атом для скintiграфических исследований, например, ^{99m}Tc или ^{112}In , или спиновую метку для изображений ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (также известную как магнитно-резонансная томография, МРТ), например снова йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо.

[00172] Ко́нъюгаты антитела могут быть получены с использованием различных бифункциональных агентов, связывающих белок, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдигидро) пропионат (SPDP), сукцинимидил-4-(N-малеимидометил) циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), имиотиолян (IT), бифункциональные производные имидозэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидил суберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис-(п-азидобензоил) гександиамин), производные бис-дiazония (такие как бис-(п-diazонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как 2,6-диизоцианат толуола) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, иммунотоксин рицин может быть получен, как описано в Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987). Меченная углеродом-14 1-изотиоцианатобензил-3-метилдиэтилентриаминпентауксусная кислота (MX-DTPA) является типичным хелатирующим агентом для ко́нъюгации радионуклеотида с антителом. См. WO 94/11026. Линкер может быть «расщепляемым линкером», способствующим высвобождению цитотоксического лекарственного средства в клетке. Могут быть использованы, например, кислотолabile линкер, чувствительный к пептидазе линкер, фотолabile линкер, диметилловый линкер или дисульфидсодержащий линкер (Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); патент США № 5208020).

[00173] Иммуноко́нъюгаты или ADC в данном документе явно предполагают ко́нъюгаты, полученные с помощью перекрестно-линкерных реагентов, включая, помимо прочего, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC и сульфо-SMPB, а также SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон) бензоат), которые являются коммерчески доступными (например, от Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A), но не ограничиваются ими.

D. Фармацевтические составы и композиции

[00174] Фармацевтические составы или композиции антитела к CD39, как описано в данном документе, получают путем смешивания такого антитела, имеющего желаемую степень чистоты, с одним или более необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями и/или эксципиентами (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), в виде лиофилизированных составов или водных растворов. Фармацевтически приемлемые носители, разбавители и эксципиенты обычно нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают: стерильную воду, буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония, хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексано́л; 3-пентано́л; и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем около 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы,

включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (*например*, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ), но не ограничиваются ими. Примеры фармацевтически приемлемых носителей в данном документе дополнительно включают агенты, диспергирующие лекарственные средства, такие как растворимые нейтрально-активные гликопротеины гиалуронидазы (sHASEGP), *например* растворимые гликопротеины гиалуронидазы PH-20 человека, такие как gHuPH20 (HYLENEX[®], Baxter International, Inc.). Некоторые примеры sHASEGP и способы применения, в том числе gHuPH20, описаны в публикациях патентов США № 2005/0260186 и 2006/0104968. В одном аспекте sHASEGP объединяют с одной или более дополнительными глюкозаминогликаназами, *например*, хондроитиназами.

[00175] Иллюстративные лиофилизированные составы антител описаны в патенте США № 6267958. Водные составы антител включают те, которые описаны в патенте США № 6171586 и WO2006/044908, причем последние составы содержат гистидин-ацетатный буфер.

[00176] Состав или композиция, описанная в данном документе, также может содержать более одного активного ингредиента, если это необходимо для конкретного показания, подлежащего лечению, предпочтительно ингредиенты с дополнительной активностью, которые не оказывают неблагоприятного воздействия друг на друга. Такие активные ингредиенты присутствуют в надлежащей комбинации в количествах, которые эффективны для предполагаемого применения.

[00177] Активные ингредиенты могут быть заключены в микрокапсулы, полученные, *например*, методами коацервации или межфазной полимеризации, *например*, микрокапсулы из гидроксиметилцеллюлозы или желатиновые микрокапсулы и полиметилметакрилатные микрокапсулы, соответственно, в коллоидных системах доставки лекарств (*например*, липосомы, альбумин микросферы, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) или в макроэмульсиях. Такие методы раскрыты в *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

[00178] Можно изготовить препараты с замедленным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, причем матрицы представлены в форме, *например* пленок или микрокапсул.

[00179] Составы или композиции, используемые для введения *in vivo*, обычно стерильны. Стерильность может быть легко достигнута, *например*, путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны.

Е. Терапевтические способы

[00180] Любые из представленных в данном документе антител к CD39 могут использоваться в терапевтических методах. Везде, где обсуждается «антитело», также следует понимать, что композиция, содержащая антитело, также включена.

[00181] В одном аспекте предложено антитело к CD39 для применения в качестве лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CD39 для применения в усилении, повышении и/или поддержании противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, имеющего опухоль. В некоторых вариантах осуществления опухоль является раковой. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CD39 для применения в лечении злокачественного новообразования.

[00182] В дополнительном аспекте в изобретении предложено применение антитела к CD39 при

производстве или приготовлении лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат предназначен для применения в усилении, повышении и/или поддержании противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, имеющего опухоль. В некоторых вариантах осуществления опухоль является раковой. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство предназначено для лечения злокачественного новообразования.

[00183] В дополнительных аспектах изобретение обеспечивает способы лечения заболеваний и/или расстройств, при которых желательно снижение или ингибирование ферментативной активности CD39. В некоторых вариантах осуществления предложены способы усиления, повышения и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, имеющего опухоль, включающие введение антитела к CD39, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления опухоль является раковой. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования у субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39, как описано в данном документе.

[00184] В некоторых аспектах в изобретении предложен способ облегчения одного или более симптомов заболевания или расстройства, связанного с белком CD39; или антитело к CD39, или лекарственное средство, содержащее антитело к CD39, для облегчения одного или более симптомов заболевания или расстройства, связанного с белком CD39 (такого как любое из заболеваний или расстройств, описанных в данном документе, например, злокачественного новообразования). В некоторых аспектах в изобретении предложен способ уменьшения количества симптомов или тяжести одного или более симптомов заболевания или расстройства, связанных с белком CD39; или антитело к CD39, или лекарственное средство, содержащее антитело к CD39, для уменьшения количества симптомов или тяжести одного или более симптомов заболевания или нарушения, связанного с белком CD39 (например, любого из заболеваний или расстройств, описанных в данном документе, например, злокачественного новообразования). В конкретном варианте осуществления симптомом заболевания или расстройства, связанного с белком CD39, является опухоль, а уменьшение представляет собой уменьшение размера опухоли, неспособность опухоли к росту или устранение опухоли.

[00185] Описанные в данном документе антитела можно использовать, например, для лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования, включающие введение субъекту эффективного количества описанного в данном документе антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела могут ингибировать рост по меньшей мере одной опухоли у субъекта. В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение субъекту антитела или композиции, описанной в данном документе, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством до введения. В некоторых вариантах осуществления предложены способы предотвращения CD39-опосредованного превращения vATF и vADF во внеклеточный аденозин в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела или композиции, описанной в данном документе, при этом введение снижает уровни внеклеточного аденозина в опухолевом микроокружении ткани. В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования активности CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела или композиции, описанной в данном документе, причем введение улучшает способность вызывать иммунный ответ против опухолевой клетки.

[00186] В данном документе предложены способы лечения субъекта, имеющего злокачественное

новообразование, включающие введение субъекту эффективного количества антитела к CD39, описанного в данном документе, таким образом, чтобы субъект проходил лечение. Антитело к CD39 можно использовать отдельно. Альтернативно, антитело к CD39 можно использовать в комбинации с другой терапией или агентом, как описано ниже.

[00187] В некоторых вариантах осуществления способы лечения субъекта, имеющего злокачественное новообразование, путем введения антитела к CD39 приводят к инфильтрации клеток врожденного иммунитета в опухолевое микроокружение. В некоторых вариантах осуществления инфильтрация клеток врожденного иммунитета больше в образце от индивидуума после применения терапии, например, по сравнению с образцом от не получавшего лечение индивидуума. В некоторых вариантах осуществления инфильтрация клеток врожденного иммунитета больше, чем инфильтрация клеток врожденного иммунитета от введения антагониста PD-1 (например, антитела к PD-1). В некоторых вариантах осуществления клетки врожденного иммунитета представляют собой миелоидные клетки. В некоторых вариантах осуществления клетки врожденного иммунитета представляют собой опухоль-ассоциированные макрофаги. В некоторых вариантах осуществления опухоль-ассоциированные макрофаги являются положительными по экспрессии антигена F4/80. В некоторых вариантах осуществления клетки врожденного иммунитета представляют собой NK-клетки.

[00188] Злокачественные новообразования могут представлять собой злокачественное новообразование с солидными опухолями или злокачественные новообразования крови (например, опухоли жидких тканей). В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является распространенным. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является рецидивирующим. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является рефрактерным. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является метастатическим. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рецидивирующую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рефрактерную солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой метастатическую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную рецидивирующую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную рефрактерную солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную метастатическую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рецидивирующую рефрактерную солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рецидивирующую метастатическую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рефрактерную метастатическую опухоль. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой распространенную рецидивирующую рефрактерную солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную рецидивирующую метастатическую опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную рефрактерную метастатическую опухоль. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование

представляет собой рецидивирующую рефрактерную метастатическую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой распространенную рецидивирующую резистентную метастатическую солидную опухоль.

[00189] Неограничивающие примеры злокачественного новообразования для лечения включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), неплюскоклеточный NSCLC, глиому, рак желудочно-кишечного тракта, рак почек (например, светлоклеточная карцинома), рак яичников, рак печени, колоректальный рак, рак эндометрия, рак почки (например, почечно-клеточная карцинома (RCC)), рак предстательной железы (например, гормонорезистентная аденокарцинома предстательной железы), рак щитовидной железы, нейробластома, рак поджелудочной железы, глиобластома (мультиформную глиобластома), рак шейки матки, рак желудка, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки и рак головы и шеи (или карциному), рак желудка, герминогенную опухоль, саркому у детей, синоназальная опухоль из натуральных клеток-киллеров, меланому (например, метастатическая злокачественная меланома, такая как кожная или внутриглазная злокачественная меланома), рак костей, рак кожи, рак матки, рак анальной области, рак яичек, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак парашитовидной железы, рак надпочечника, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, солидные опухоли у детей, рак мочеточника, карциному почечной лоханки, новообразование центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, рак головного мозга, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, раковые образования, связанные с воздействием окружающей среды, в том числе индуцированные асбестом, связанные с вирусом раковые опухоли или раковые опухоли вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (опухоль, связанные с HPV-, или опухоли с HPV-происхождением)), а также гематологические злокачественные новообразования, происходящие от одного из двух основных линий клеток крови то есть линии миелоидных клеток (которая продуцирует гранулоциты, эритроциты, тромбоциты, макрофаги и тучные клетки) или линии лимфоидных клеток (которая продуцирует В, Т, NK и плазматические клетки), например, все типы лейкозов, лимфом и миелом, например, острые, хронические, лимфоцитарные и/или миелогенные лейкозы, такие как острый лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL) и хронический миелолейкоз (CMML), недифференцированный AML (M0), миелобластный лейкоз (M1), миелобластный лейкоз (M2; с созреванием клеток), промиелоцитарный лейкоз (вариант M3 или M3 [M3V]), миеломоноцитарный лейкоз (M4 или вариант M4 с эозинофилией [M4E]), моноцитарный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6), мегакариобластный лейкоз (M7), изолированную гранулоцитарную саркому и хлорому; лимфомы, такие как лимфома Ходжкина (HL), неходжкинская лимфома (NHL), В-клеточные гематологические злокачественные новообразования, например, В-клеточные лимфомы, Т-клеточные лимфомы, лимфоплазматикоидные лимфомы, моноцитотидные В-клеточные лимфомы, лимфома лимфоидной ткани, ассоциированная со слизистой оболочкой (MALT), анапластическая (например, Ki 1+) крупноклеточная лимфома, Т-клеточная лимфома/лейкоз взрослых, лимфома из мантийных клеток, ангио-иммунобластная Т-клеточная лимфома, ангиоцентрическая лимфома, интестинальная Т-клеточная лимфома, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, предшественница Т-лимфобластной лимфомы, Т-лимфобластная лимфома; и лимфома/лейкоз (T-Lbly / T-ALL), периферическая Т-клеточная лимфома, лимфобластная лимфома, посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание, истинная гистиоцитарная лимфома,

первичная лимфома центральной нервной системы, первичная эффузионная лимфома, В-клеточная лимфома, лимфобластная лимфома (LBL), гемопоэтические опухоли лимфоидной линии, острый лимфобластный лейкоз, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома Беркитта, фолликулярная лимфома, диффузная гистиоцитарная лимфома (DHL), иммунобластная крупноклеточная лимфома, предшественница В-лимфобластной лимфомы (CTLC-лимфома), также называемая грибовидным микозом или синдромом Сезари) и лимфоплазмацитоидная лимфома (LPL) с макроглобулинемией Вальденстрема; миеломы, такие как миелома IgG, миелома легких цепей, несекреторная миелома, вялотекущая миелома (также называемая индолентной миеломой), одиночная плазмочитома и множественные миеломы, хронический лимфолейкоз (CLL), волосисто-клеточная лимфома; гемопоэтические опухоли миелоидного происхождения, опухоли мезенхимального происхождения, включая фибросаркому и рабдомиосаркому; семинома, тератокарцинома, опухоли центральной и периферической нервной системы, включая астроцитому, шванномы; опухоли мезенхимального происхождения, включая фибросаркому, рабдомиосаркому и остеосаркому; и другие опухоли, в том числе меланому, пигментную ксеродермию, кератоакантому, семиному, фолликулярный рак щитовидной железы и тератокарциному, гемопоэтические опухоли лимфоидной линии, например, Т-клеточные и В-клеточные опухоли, включая, помимо прочего, Т-клеточные нарушения, такие как Т-пролимфоцитарный лейкоз (Т-PLL), включая типы с мелкоклеточными и церебриформными клетками; лейкоз из крупных гранулярных лимфоцитов (LGL) Т-клеточного типа; и Т-NHL гепатолиенальную лимфому; периферическую/посттимическую Т-клеточную лимфому (плеоморфные и иммунобластные подтипы); ангиоцентрическую (назальную) Т-клеточную лимфому; рак головы или шеи, рак почек, рак прямой кишки, рак щитовидной железы; острая миелоидная лимфома, а также любые комбинации указанных злокачественных новообразований. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения метастатических злокачественных новообразований, и/или неоперабельных злокачественных новообразований, и/или рецидивирующих злокачественных новообразований, и/или рефрактерных злокачественных новообразований, и/или распространенных злокачественных новообразований, и/или рецидивирующих злокачественных новообразований. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения рака поджелудочной железы. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения рака желудка. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения рака предстательной железы. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения рака эндометрия. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения немелкоклеточного рака легкого. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения колоректального рака. Описанные в данном документе способы можно использовать для лечения рака яичников.

[00190] В определенных вариантах осуществления описанное в данном документе антитело вводят субъектам, имеющим злокачественное новообразование, которое проявило недостаточный ответ на предшествующее лечение или прогрессировало, например, на предшествующее лечение иммуноонкологическим или иммунотерапевтическим препаратом. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является рефрактерным или резистентным к предшествующему лечению, либо по своей природе рефрактерным, либо резистентным (например, рефрактерным к антагонисту пути PD-1), или при котором приобретает резистентное или рефрактерное состояние. Например, описанное в данном документе антитело можно вводить субъектам, которые не реагируют или недостаточно реагируют на первую терапию, или у которых наблюдается прогрессирование заболевания после лечения, например, лечения антагонистом пути PD-1, либо отдельно, либо в комбинации с другой терапией (например, с терапией

антагонистами пути PD-1). В других вариантах осуществления описанное в данном документе антитело вводят субъектам, которые ранее не получали (т.е. не лечились) иммуноонкологический агент, например, антагонист пути PD-1.

F. Комбинации

[00191] Антитела к CD39 можно использовать либо отдельно, либо в комбинации с другими терапевтическими агентами (также иногда называемые в данном документе второй терапией). Например, антитело к CD39 можно использовать в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим агентом (например, дополнительно включающим применение второй терапии или дополнительно включающее применение второй терапии и третьей терапии (комбинация трех противораковых терапий)).

[00192] В некоторых вариантах осуществления нацеливание на дополнительный независимый путь ингибирования или их комбинации могут привести к дальнейшему усилению активации иммунных клеток по сравнению с монотерапией.

[00193] В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии. В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии и третьей терапии.

[00194] В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии и третьей терапии.

[00195] В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством перед введением, и при этом способ дополнительно включает применение второй терапии. В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количества перед введением, и при этом способ дополнительно включает применение второй терапии и третьей терапии.

[00196] В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии, при этом вторая терапия представляет собой антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает введение антагониста PD-1 и третьей терапии.

количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством перед введением, и при этом способ дополнительно применение второй терапии, причем вторая терапия представляет собой антагонист A2AR, антагонист A2BR или двойной антагонист A2AR/A2B. В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством перед введением, и при этом способ дополнительно включает применение антагониста A2AR, антагониста A2BR или двойного антагониста A2AR/A2B и третьей терапии.

[00208] В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии, при этом вторая терапия представляет собой антагонист CD47. В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает применение антагониста CD47 и третьей терапии.

[00209] В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии, где вторая терапия представляет собой антагонист CD47. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом способ дополнительно включает применение антагониста CD47 и третьей терапии.

[00210] В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством перед введением, и при этом способ дополнительно включает применение второй терапии, причем вторая терапия представляет собой антагонист CD47. В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством перед введением, и при этом способ дополнительно включает применение антагониста CD47 и третьей терапии.

[00211] В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии, при этом вторая терапия представляет собой антагонист CTLA4. В некоторых вариантах осуществления предложены способы повышения, усиления и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему опухоль, при этом способ дополнительно включает применение антагониста CTLA4 и третьей терапии.

[00212] В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом способ дополнительно включает применение второй терапии, где вторая терапия

представляет собой антагонист CTLA4. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом способ дополнительно включает применение антагониста CTLA4 и третьей терапии.

[00213] В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством перед введением, и при этом способ дополнительно включает применение второй терапии, причем вторая терапия представляет собой антагонист CTLA4. В некоторых вариантах осуществления предложены способы ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение антитела к CD39 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с активностью или количеством перед введением, и при этом способ дополнительно включает применение антагониста CTLA4 и третьей терапии.

[00214] В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент или вторая терапия, или третья терапия представляет собой химиотерапевтический агент, опсонизирующий агент, агент, истощающий популяцию регуляторных Т-клеток («Трег»), антагонист мишени, отличной от CD39, или агонист мишени, отличной от CD39. В определенных вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент, или вторая терапия, или третья терапия, представляет собой химиотерапевтический агент, описанный в данном документе, или любой известный химиотерапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент или вторая терапия или третья терапия представляет собой опсонизирующий агент, при этом опсонизирующий агент представляет собой антитело, отличное от антитела к CD39, которое нацелено на раковые или опухолевые клетки. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент, или вторая терапия, или третья терапия, представляет собой агент, истощающий Трег, описанный в данном документе, или любой известный агент, истощающий популяцию Трег. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент, или вторая терапия, или третья терапия, представляет собой антагонист мишени, отличной от CD39. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент, или вторая терапия, или третья терапия, представляет собой агонист мишени, отличной от CD39.

[00215] В некоторых случаях дополнительное терапевтическое средство, вторая терапия или третья терапия нацелены на независимый путь ингибирования, такой как, например, путь с участием PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, A2AR, A2BR, CD40 или CD73. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент или вторая терапия, или третья терапия антагонизирует один или более из PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, A2AR, A2BR, CD40 или CD73. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент, или вторая терапия, или третья терапия, представляет собой агент, нацеленный на аденозиновую ось. В некоторых вариантах осуществления агент, нацеленный на аденозиновую ось, представляет собой ингибитор CD73. В некоторых вариантах осуществления агент, нацеленный на ось аденозина, представляет собой антагонист A2AR, A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR. Подходящие антагонисты для использования в описанной в данном документе комбинированной терапии включают, без ограничения, лиганды, антитела (например, моноклональные антитела и биспецифические антитела) и поливалентные агенты. В одном варианте осуществления антагонист представляет собой слитый белок, например слитый белок Fc, такой как AMP-244.

В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-1 представляет собой антитело к PD-1 или антитело к PD-L1.

[00216] В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают применение второй терапии, где вторая терапия представляет собой введение антагониста PD-1 (например, антитела к PD-1). В некоторых вариантах осуществления способы приводят к усилению гамма-интерфероновому (IFN- γ) ответу в опухолевом микроокружении. В некоторых вариантах осуществления увеличение в IFN- γ ответе больше, чем в IFN- γ ответе от введения только антагониста PD-1. В некоторых вариантах осуществления увеличение в IFN- γ ответе больше, чем в IFN- γ ответе от субъекта, которому не вводили антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления усиление IFN- γ ответа является активацией генов, связанных с гамма-интерфероном (IFN- γ), в опухоль-ассоциированных макрофагах в опухолевом микроокружении. В некоторых вариантах осуществления увеличение IFN- γ ответа представляет собой увеличение количества белка IFN- γ в опухолевом микроокружении. В некоторых вариантах осуществления увеличение IFN- γ ответа представляет собой увеличение экспрессии гена IFN- γ в клетках, выделенных из опухолевого микроокружения.

[00217] В некоторых вариантах осуществления способы лечения субъекта, имеющего злокачественное новообразование, антителом к CD39 и антагонистом PD-1 (например, антителом к PD-1) приводят к инфильтрации клеток врожденного иммунитета в опухолевом микроокружении. В некоторых вариантах осуществления инфильтрация клеток врожденной иммунной системы больше, чем инфильтрация клеток врожденного иммунитета от введения только антагониста PD-1. В некоторых вариантах осуществления инфильтрация клеток врожденного иммунитета больше, чем инфильтрация клеток врожденного иммунитета от субъекта, которому не вводили антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления клетки врожденного иммунитета представляют собой миелоидные клетки. В некоторых вариантах осуществления клетки врожденного иммунитета представляют собой опухоль-ассоциированные макрофаги. В некоторых вариантах осуществления опухоль-ассоциированные макрофаги являются положительными по экспрессии антигена F4/80. В некоторых вариантах осуществления клетки врожденного иммунитета представляют собой NK-клетки.

[00218] Типичным антителом к PD-1 является ниволумаб (BMS-936558) или антитело, которое содержит CDR или вариабельные области одного из антител 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 и 4A11, описанные в WO 2006/121168. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой МК-3475 (пембролизумаб), описанный в WO2012/145493; AMP-514, описанный в WO 2012/145493; PDR001; BGB-A317 (тислелизумаб) и BGB-108; 244C8 и 388D4, как описано в WO2016106159; REGN2810; пидилизумаб; TSR-042; PF-06801591; или AMP-224. Другие известные антитела к PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают антитела, описанные в WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, патентах США № 7635757 и 8217149, и публикации патента США № 2009/0317368. Также можно использовать любое из антител к PD-1, описанных в WO2013/173223. Антитело к PD-1, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на PD-1, что и одно из этих антител, также можно использовать в комбинированном лечении.

[00219] В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1, используемое в комбинированной терапии, представляет собой BMS-936559 (обозначается как 12A4 в WO 2007/005874 и патенте США № 7943743) или антитело, которое содержит CDR или вариабельные области 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 и 13G4, которое описано в публикации PCT WO 07/005874 и патенте США № 7943743. В определенном варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MEDI4736 (также известный как дурвалумаб и анти-B7-H1), MPDL3280A (также известный как атезолизумаб и RG7446), MSB0010718C

(также известный как авелумаб; WO2013/79174), FAZ053, MDX1105, или rHlgM12B7. Также можно использовать любое из антител к PD-L1, раскрытых в WO 2013/173223, WO 2011/066389, WO 2012/145493, патентах США № 7635757 и 8217149 и публикации США № 2009/145493. Антитела к PD-L1, которые конкурируют и/или связываются с тем же эпитопом, что и эпитоп любого из этих антител, также можно использовать в комбинированном лечении.

[00220] В определенных вариантах осуществления антитело к CD39 по данному описанию можно использовать с антагонистом CTLA-4, например, антителом к CTLA-4. В одном из вариантов осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой антитело, выбранное из группы: Yervoy® (ипилимумаб или антитело к 10D1, описанное в публикации PCT WO 01/14424), тремелимумаб (ранее тицилимумаб, CP-675206), моноклональное антитело или антитело к CTLA-4, описанное в любой из следующих публикаций: WO 98/42752; WO 00/37504; патенте США № 6207156; Hurwitz et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95(17): 10067-10071; Camacho et al. (2004) *J. Clin. Oncology* 22(145): antibodies tract No. 2505 (антитело CP-675206); и Mokyr et al. (1998) *Cancer Res.* 58:5301-5304. Также можно использовать любое из антител к CTLA-4, описанных в WO2013/173223.

[00221] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по настоящему описанию используется в комбинации с антагонистом LAG-3 (также называемым в данном и других документах как LAG3). В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 выбран из группы, состоящей из LAG525, BMS-986016 и TSR-033. Примеры антител к LAG3 включают антитела, содержащие CDR или переменные области антител 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 или 17E5, которые описаны в публикации патента США № US 2011/0150892, WO 10/19570 и WO 2014/008218. В одном варианте осуществления антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016. Другие признанные в данной области антитела к LAG-3, которые можно использовать, включают IMP731 и IMP-321, описанные в US 2011/007023, WO 08/132601 и WO 09/44273. Антитела к LAG-3, которые конкурируют и/или связываются с тем же эпитопом, что и эпитоп любого из этих антител, также можно использовать в комбинированном лечении.

[00222] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по настоящему описанию используется в комбинации с антагонистом аденозина A2AR, антагонистом A2BR или двойными антагонистами A2AR/A2BR. Примеры антагонистов A2AR, A2BR и двойных антагонистов A2AR/A2BR включают преладенант / SCH 420814 (Merck/Schering, регистрационный номер CAS: 377727-87-2), который описан в Hodgson et al., (2009) *J Pharmacol Exp Ther* 330 (1): 294-303 и полностью включены в данный документ посредством ссылки; ST-4206 (Leadiant Biosciences), который описан в патенте США № 9133197 и полностью включен в данный документ посредством ссылки; KW-6356 (Kyowa Hakko Kogyo), тозаденант / SYN-115 (Acorda), истрадефиллин / KW-6002 (Kyowa Hakko Kogyo, регистрационный номер CAS: 155270-99-8), который описан в LeWitt et al., (2008) *Ann Neurol* 63(3):295-302 и полностью включено в данный документ посредством ссылки; теофиллин (регистрационный номер CAS: 58-55-9), NIR178 (Novartis); AB928 (Arcus Biosciences), GBV-2034 (Globavir), выпаденант (Redox/Juno), AZD4635/HTL-1071 (AstraZeneca/Heptares), который описан в WO2011/095625 и полностью включен в данный документ посредством ссылки; CPI-444/V81444 (Corvus/Genentech), который описан в WO 2009/156737 и полностью включен в данный документ посредством ссылки; PBF509 (Palobiofarma/Novartis), который описан в US 8796284 и WO 2017/025918 и полностью включен в данный документ посредством ссылки; антагонисты A2AR, описанные в US8114845, US9029393, US20170015758 или US20160129108, все из которых полностью включены в данный документ посредством ссылки; и ATL-444, MSX-3, SCH-58261, SCH-412348, SCH-442416, VER-6623, VER-6947, VER-7835, CGS-15943, или ZM-241385.

[00223] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по данному описанию используется в комбинации с антагонистом аденозина A2BR. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по настоящему описанию используется в комбинации с двойным антагонистом A2AR/A2BR.

[00224] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по данному описанию используется в комбинации с ингибитором CD40.

[00225] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по данному описанию используется в комбинации с агентом, нацеленным на аденозиновую ось, (например, ингибитором CD73 или антагонистом A2AR/A2BR).

[00226] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по данному описанию используется в комбинации с ингибитором CD73. Примеры ингибиторов CD73 включают низкомолекулярные ингибиторы CD73, такие как AB421 (Arcus), антитело CD73 или его антигенсвязывающая часть, которая связывается с CD73, например, MEDI9447 (Medimmune), BMS-986179 (Bristol Meyers Squibb) или такие, как описано в US2018/0009899 (Corvus), который полностью включен в данный документ посредством ссылки.

[00227] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD39 по данному описанию используется в комбинации с ингибитором TIM-3. Примеры ингибиторов TIM-3 включают MGB453 (Novartis), TSR-022 (Tesaro) или LY3321367 (Eli Lilly). Подходящие антагонисты для использования в описанной в данном документе комбинированной терапии включают, без ограничения, лиганды, антитела (например, моноклональные антитела и биспецифические антитела) и поливалентные агенты.

[00228] В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов представляют собой терапию клетками с химерным антигенным рецептором (CAR). В некоторых вариантах осуществления CAR-клеточная терапия представляет собой CTL019.

[00229] В некоторых вариантах осуществления члены семейства генов PVR активируются в опухолевых клетках и могут проявлять присущие опухолевые свойства. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления вторая терапия выбрана из одного или более антагонистов TIGIT, CD112R, CD96, PVRL1, PVRL2, PVRL3, PVRL4 и CD155. Подходящие антагонисты для использования в описанной в данном документе комбинированной терапии включают, без ограничения, лиганды, антитела (например, моноклональные антитела и биспецифические антитела) и поливалентные агенты.

[00230] Агонисты STING индуцируют активацию клеток врожденного иммунитета, что приводит к усилению примирования Т-клеток и привлечению иммунных клеток в микроокружение опухоли. Нацеливание на агонисты STING в комбинации с CD39 может привести к еще большему увеличению набора и активации Т-клеток и NK-клеток.

[00231] Повышенный фагоцитоз, опосредованный антителом к CD47, может привести к увеличению презентирования раковых антигенов макрофагами Т-клеткам. Комбинированное лечение антителом к CD47 и антителом к CD39, таким как антитело к CD39, предложенное в данном документе, дает возможность усилить ответ специфических к раковому антигену Т-клеток, и полностью охвачено данным документом.

[00232] В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент, или вторая терапия, или третья терапия, представляет собой антагонист CD47. В некоторых вариантах осуществления антагонист CD47 представляет собой антитело к CD47. Антитело к CD47 может содержать SEQ ID NO: 40004 (тяжелая цепь, содержащая константную область человеческого IgG4 дикого типа) и SEQ ID NO: 40005 (легкая цепь). В некоторых вариантах осуществления антитело к CD47 содержит: (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40006; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40007; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ

ID NO: 40008; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40009; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40010; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40011. См. Фиг. Патент № 9803016 (например, SEQ ID NO: 24 и 26), полностью включенный в данный документ посредством ссылки.

[00233] Антитела в данном документе также могут быть предоставлены до, по существу одновременно с или после других терапий, например, хирургического вмешательства, химиотерапии, лучевой терапии или введения биологического препарата, такого как другое терапевтическое антитело. В некоторых вариантах осуществления, где, например, вводят два лечения или вводят комбинацию трех противораковых терапий, терапии можно применять одновременно, последовательно и/или в разные моменты времени в соответствии с их собственным графиком дозирования. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование рецидивировало или прогрессировало после терапии, выбранной из хирургического вмешательства, химиотерапии и лучевой терапии, или их комбинации. Например, антитело к CD39, описанное в данном документе, можно применять в качестве дополнительной терапии, когда существует риск наличия микрометастазов и/или для снижения риска рецидива.

[00234] В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтический агент используется в комбинации с описанным в данном документе антителом к CD39. Примеры химиотерапевтических агентов включают, но не ограничиваются ими, антрациклины (например, доксорубин, идарубин, даунорубин, citarabin, эпирубин, валрубин и митоксантрон) (см., например, Minotti et al., (2004) *Pharmacol Rev* 56 (2):185- 229), ингибиторы топоизомеразы (например, топотекан; Нусамтин, камптотецин, этопозид) (см., например, Pommier et al., (2010) *Chem Biol* 17 (5):421-433; которая полностью включена в данный документ посредством ссылки), блеомицин (Kimura et al., (1972) *Cancer* 29 (1):58-60), гемцитабин (Plunkett et al., (1995) *Semin Oncol* 22 (4 Suppl 11):3-10), платины (например, карбоплатин, цисплатин, оксалиплатин, сатраплатин, пикоплатин) (Kelland (2007) *Nat Rev Cancer* 7 (8): 573-584), таксаны (например, доцетаксел, паклитаксел, абраксан) (Abal et al., (2003) *Curr Cancer Drug Targets* 3 (3):193-203) (включая связанные с альбумином версии таксанов (например, связанный с альбумином паклитаксел), ДНК-алкилирующие агенты (например, циклофосфамид, бендамустин) (Leoni et al., (2008) *Clin Cancer Res* 14(1):309-317), CHOP (лекарственное сочетание циклофосфамида, гидрохлорида доксорубина, винкристина и преднизона) (Dunleavy (2014) *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014(1):107-112) и фторурацил и его производные (Alvarez et al., (2012) *Expert Opin Ther Pat* 22(2):107-123, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки).

[00235] В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтический агент индуцирует гибель иммуногенных клеток (ICD). В некоторых вариантах осуществления агент, который индуцирует ICD, представляет собой антрациклин. В некоторых вариантах осуществления антрациклин выбран из доксорубина, даунорубина, эпирубина, идарубина и валрубина. В некоторых вариантах осуществления антрациклин представляет собой доксорубин. В некоторых вариантах осуществления агент, индуцирующий ICD, представляет собой производное платины. В некоторых вариантах осуществления производное платины выбрано из оксалиплатина, карбоплатина и цисплатина. В некоторых вариантах осуществления производное платины представляет собой оксалиплатин.

[00236] Другие химиотерапевтические агенты, подходящие для комбинации и/или совместного введения с композициями по данному изобретению, включают, например: таксол, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубин, даунорубин, дигидроксиантранциндон, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-

дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромидин и их аналоги или гомологи. Дополнительные агенты включают, например, антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил декарбазин), алкилирующие агенты (например, мехлорэтамин, тиотепа, хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU), ломустин (CCNU), циклофосфамид, бусульфан, диброманнитол, стрептозотоцин, митомицин С, цис-дихлордиаминплатину (II) (DDP), прокарбазин, альтретаин, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, сатраплатин, или тетранитрат триплатину), антрациклин (например, даунорубин (ранее дауномицин) и доксорубин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (АМС)) и антимиотические агенты (например, винкристин и винбластин) и темозоломид.

[00237] Для лечения злокачественного новообразования комбинации можно вводить в сочетании с одним или более дополнительными противораковыми агентами, такими как химиотерапевтический агент, агент, ингибирующий рост, противораковая вакцина, такая как вакцина для генной терапии, агент против ангиогенеза и/или противоопухолевый состав.

[00238] В некоторых вариантах осуществления с комбинацией можно вводить противовоспалительное лекарственное средство, такое как стероид или нестероидное противовоспалительное лекарственное средство (NSAID). В случаях, когда желательно привести в состояние покоя aberrantly пролиферативные клетки в комбинации с лечением антителами к CD39, описанными в данном документе, или до него, субъекту также можно вводить гормоны и стероиды (включая синтетические аналоги), такие как 17 α -этинилэстрадиол, диэтилстильбестрол, тестостерон, преднизон, флуоксиместерон, дромостанолон пропион, тестолактон, мегестролацетат, метилпреднизолон, метил-тестостерон, преднизолон, триамцинолон, хлортрианизен, гидроксипрогестерон, аминоклутетимид, эстрамустин, медроксипрогестеронацетат, леупролид, флутамид, торемифен, ZOLADEX®. При использовании способов или композиций, описанных в данном документе, при желании также можно вводить другие агенты, используемые для модуляции роста или метастазирования опухоли в клинических условиях, такие как антимиотетики.

[00239] Такие комбинированные терапии, указанные выше, включают комбинированное введение (когда два или три или более терапевтических агента включены в одни и те же или отдельные составы или композиции) и раздельное введение, и в этом случае введение антитела к CD39 может происходить до, одновременно и/или после введения дополнительного терапевтического агента или агентов. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к CD39 и введение дополнительного терапевтического агента происходит в течение примерно одного месяца, или в течение примерно одной, двух или трех недель, или в течение примерно одного, двух, трех, четырех, пяти или шести дней друг от друга.

[00240] Антитело к CD39 (и любой дополнительный терапевтический агент) можно вводить любыми подходящими способами, включая парентеральное, внутривенное и интраназальное, и, если желательно для местного лечения, внутривенное введение. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное и подкожное введение. Введение дозы может осуществляться любым подходящим путем, *например* инъекциями, такими как внутривенные или подкожные инъекции, частично в зависимости от того, является ли введение краткосрочным или хроническим. В данном документе предложены различные схемы дозирования, включая, помимо прочего, однократное или многократное введение в различные моменты времени, болюсное введение и пульсовую инфузию.

[00241] Антитела к CD39 (и терапевтические средства на основе вторичных антител) могут быть составлены, дозированы и введены в соответствии с надлежащей медицинской практикой. Факторы, которые следует учитывать в этом контексте, включают конкретное заболевание, которое лечат, конкретное

млекопитающее, которое лечат, клиническое состояние отдельного субъекта, причину расстройства, место доставки агента, способ введения, схема введения и другие факторы, известные практикующим врачам. Используемый в данном документе термин «разделенная доза» означает разделение единичной стандартной дозы или общей суточной дозы на две или более доз, например, два или более введения единичной стандартной дозы. Антитело можно вводить в виде «разделенной дозы».

[00242] Антитело не обязательно, но опционально приготовлено с одним или более агентами, используемыми в настоящее время для предотвращения или лечения рассматриваемого нарушения. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества антитела, присутствующего в составе или композиции, типа расстройства или лечения и других факторов, обсуждаемых выше. Они, как правило, используются в тех же дозировках и с путями введения, как описано в данном документе, или приблизительно от 1 до 99% дозировок, описанных в данном документе, или в любой дозировке и любым путем, который эмпирически/клинически определен как подходящий. В некоторых вариантах осуществления антитело представлено в составе для немедленного высвобождения, а другой агент приготовлен для пролонгированного высвобождения или наоборот.

G. Промышленные изделия

[00243] В другом аспекте предложено промышленное изделие, содержащее материалы, пригодные для лечения, профилактики и/или диагностики расстройств, описанных выше. Промышленное изделие содержит контейнер и этикетку или листок-вкладыш в упаковке, нанесенный на или связанный с контейнером. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы, пакеты с растворами для в/в введения и т. д. Контейнеры можно формировать из различных материалов, например из стекла или пластика. Контейнер содержит композицию, одну или в комбинации с другой композицией, эффективной в лечении, профилактике и/или диагностировании патологического состояния, и может иметь стерильное входное отверстие (например, контейнер может представлять собой пакет для растворов для внутривенного введения или флакон с пробкой, прокалываемой с помощью иглы для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный агент в композиции представляет собой антитело. На этикетке или листке-вкладыше в упаковке указано то, что композиция используется для выбранного патологического состояния. Кроме того, изделие может содержать (а) первый контейнер с содержащейся в нем композицией, причем композиция содержит антитело к CD39; и (b) второй контейнер с содержащейся в нем композицией, причем композиция содержит дополнительный цитотоксический или иной терапевтический агент. Промышленное изделие в этом варианте осуществления изобретения может дополнительно содержать вкладыш в упаковку, указывающий, что композиции могут использоваться для лечения конкретного патологического состояния. Альтернативно или дополнительно изделие может дополнительно содержать второй (или третий) контейнер, содержащий фармацевтически - приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), фосфатно-солевой буфер, раствор Рингера и раствор декстрозы. Оно может дополнительно включать другие материалы, желательные с коммерческой точки зрения и с точки зрения пользователя, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

[00244] Понятно, что любое из вышеуказанных промышленных изделий может включать иммуноконъюгат вместо или в дополнение к антителу к CD39.

IV. ПРИМЕРЫ

Пример 1. Получение антител к CD39

[00245] Антигены CD39 (рекомбинантный CD39; R&D systems, кат. № 4397-EN) биотинилировали с использованием набора EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit от Pierce. Козий F(ab')₂, конъюгированный FITC, к каппа-цепи человека (LC-FITC), ExtrAvidin-PE (EA-PE) и стрептавидин-AF633 (SA-633) были получены от Southern Biotech, Sigma и Molecular Probes, соответственно. Разделительные колонки со стрептавидиновыми микрогранулами и MACS LC были приобретены у Miltenyi Biotec. Козье антитело, конъюгированное с PE, к IgG человека (Human-PE) было получено от Southern Biotech.

[00246] *Первичное обнаружение.*

[00247] Восемь наивных синтетических дрожжевых библиотек человека, каждая из ~10⁹ вариантов, размножали, как описано ранее (см., например, Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. PDS 26.10, 663-70 (2013); WO 2009036379; WO 2010105256; и WO 2012009568). Для первых двух раундов селекции была выполнена методика магнитной сортировки гранул с использованием системы Miltenyi MACS, как описано ранее (см., например, Siegel et al, High efficiency recovery and epitope-specific sorting of an scFv yeast display library". J Immunol Methods 286(1-2), 141-153 (2004)). Вкратце, дрожжевые клетки (~10¹⁰ клеток/библиотеку) инкубировали с 1,5 мл 10 нМ биотинилированного Fc-слитого антигена в течение 15 минут при 30°C в промывочном буфере (фосфатно-солевой буфер (PBS)/0,1% бычий сывороточный альбумин (BCA)). После однократного промывания 40 мл ледяного промывочного буфера осадок клеток ресуспендировали в 20 мл промывочного буфера, к дрожжам добавляли стрептавидиновые микрогранулы (500 мкл) и инкубировали в течение 15 мин при 4°C. Затем дрожжи осаждали, ресуспендировали в 20 мл промывочного буфера и наносили на колонку Miltenyi LS. После загрузки 20 мл на колонку, ее промывали 3 раза 3 мл промывочного буфера. Колонку затем удаляли из магнитного поля и дрожжи элюировали 5 мл питательной среды и затем выращивали в течение ночи. Следующие раунды селекции были выполнены с использованием проточной цитометрии. Приблизительно 2×10⁷ дрожжей осаждали, трижды промывали промывочным буфером и инкубировали при 30°C либо с уменьшающимися концентрациями биотинилированного антигена (от 200 до 5 нМ) в условиях равновесия, либо с реагентом истощения полиспецифичности (PSR), чтобы удалить неспецифические антитела из выборки. Для истощения PSR библиотеки инкубировали разведением 1:10 биотинилированного реагента PSR, как описано ранее (см., например, Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. PDS 26.10, 663-70 (2013)). Затем дрожжи дважды промывали промывочным буфером и окрашивали вторичными реагентами LC-FITC (разбавленным 1:100) и либо SA-633 (разбавленным 1:500), либо EAPE (разбавленным 1:50) в течение 15 минут при 4°C. После двукратной промывки промывочным буфером осадки клеток ресуспендировали в 0,3 мл промывочного буфера и переносили в сортирующие пробирки с сетчатыми крышками.

[00248] Сортировку проводили с использованием сортировщика FACS ARIA (BD Biosciences) и определяли сортировочные интервалы для отбора антител с желаемыми характеристиками. Раунды селекции повторяли до тех пор, пока не была получена популяция со всеми желаемыми характеристиками. После последнего раунда сортировки дрожжи высевали и отбирали отдельные колонии для определения характеристик.

[00249] *Перетасовывание партии легких цепей.*

[00250] Протокол диверсификации легкой цепи использовали на этапе первичного обнаружения для дальнейшего обнаружения и улучшения антител.

[00251] Протокол диверсификации партии легких цепей: тяжелые цепи из выборки наивных антител экстрагировали из дрожжей с помощью ПЦР и трансформировали в библиотеку легких цепей с количеством вариантов 5×10^6 . Селекцию выполняли с одним раундом MACS и тремя раундами FACS, как описано в протоколе обнаружения наивных антител. В различных раундах FACS библиотеки проверяли на связывание PSR и давление аффинности путем титрования антигена. Сортировка проводилась для получения популяции с желаемыми характеристиками.

[00252] *Созревание аффинности антител*

[00253] Созревание аффинности антител проводили путем введения разнообразия в переменные области тяжелой цепи, как описано ниже.

[00254] Селекция CDRH1 и CDRH2: CDRH3 одного антитела рекомбинировали в предварительно созданную библиотеку с вариантами CDRH1 и CDRH2 с количеством вариантов 1×10^8 , и селекцию выполняли с помощью одного раунда MACS и трех раундов FACS, как описано в протоколе обнаружения наивных антител. В различных раундах FACS библиотеки исследовали на предмет связывания PSR, перекрестной реактивности у мыши, и давления аффинности путем титрования или давления аффинности путем предварительного образования комплекса антигена с исходным Fab или исходным IgG для обогащения связывающими веществами с более высокой аффинностью, чем исходный IgG. Сортировку проводили для получения популяции с желаемыми характеристиками.

[00255] *Производство и очистка антител*

[00256] Клоны дрожжей выращивали до насыщения и затем индуцировали в течение 48 часов при 30 °C при встряхивании. После индукции дрожжевые клетки осаждали и супернатанты собирали для очистки. IgG очищали с использованием колонки с белком А и элюировали уксусной кислотой, pH 2,0. Фрагменты Fab были получены путем расщепления папаином и очищены с помощью KappaSelect (GE Healthcare LifeSciences).

[00257] Клоны 1-20 представляют собой антитела IgG1 (последовательность константной области человеческого IgG1 показана как SEQ ID NO: 40000). Клоны 21-22 представляют собой антитела IgG4 с одноточечной мутацией S228P (последовательность константной области человеческого IgG4 с мутацией S228P показана как SEQ ID NO: 40002). Клон 22 отличается от клона 21 одной аминокислотой (К в клоне 21, R в клоне 22) в FR4 VH. В общем, антитела, в которых используются константные области тяжелой цепи SEQ ID NO: 40002 (мутация S228P), SEQ ID NO: 40003 (S228P и L235E), SEQ ID NO: 40000 (IgG1 дикого типа) и SEQ ID NO: 40001 (IgG4 дикого типа), могут также обозначаться номером клона и -A, -B, -C и -D, соответственно. В общем, все описанные в данном документе примеры антител содержат легкую каппа-цепь человека.

[00258] Последовательности белков тяжелой цепи и легкой цепи клона 21 показаны как SEQ ID NO: 20019 и 20021, соответственно. Нуклеотидные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи клона 21 показаны как SEQ ID NO: 20020 и 20022, соответственно.

[00259] Последовательности белков тяжелой цепи и легкой цепи клона 22 показаны как SEQ ID NO: 30019 и 30021, соответственно. Нуклеотидные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи клона 22 показаны как SEQ ID NO: 30020 и 30022, соответственно.

Пример 2. Антитела к CD39 связываются с раковыми клетками человека

[00260] Чтобы определить относительную степень связывания антител к CD39 с клетками, клетки MOLT-8 или SK-MEL-28 обрабатывали двумя концентрациями флуоресцентно меченных антител к CD39 или контрольного антитела IgG1, как показано на **Фиг. 1A, 1B, 1C, 1D**. Степень связывания с клетками

определяли и выражали в виде средней интенсивности флуоресценции (СИФ). Клетки промывали буфером для FACS (2 mM ЭДТА, 2% FBS) и осаждали при помощи центрифугирования. Клетки ресуспендировали в буфере для FACS, содержащем дозу антитела к CD39 или контрольного антитела IgG1, непосредственно меченного флуорофором Alexa Fluor 488 (AF488), и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем клетки дважды промывали буфером для FACS с последующей фиксацией в 4% параформальдегиде (PFA), ресуспендировали в буфере для FACS и анализировали на анализаторе FACS Canto II (BD Biosciences).

[00261] Как показано на **Фиг. 1A** (антитела до созревания аффинность) и **Фиг. 1B** (антитела с созревшей аффинностью) связывались с клетками SK-MEL-28. Как показано на **Фиг. 1C** (антитела до созревания аффинности) и **Фиг. 1D** (антитела с созревшей аффинностью) связываются с клетками MOLP-8.

Пример 3. Антитела к CD39 ингибируют активность CD39 в злокачественных и иммунных клетках

[00262] Способность антител к CD39 ингибировать ферментативную активность CD39 на линиях злокачественных клеток и первичных иммунных клетках измеряли с помощью анализа фосфата малахитового зеленого. Вкратце, клетки обрабатывали в течение 60 мин антителами к CD39 или контрольными антителами и 25 мкМ АТФ. Высвобождение неорганического фосфата из АТФ измеряли с использованием набора для анализа фосфата малахитового зеленого (Enzo Life Sciences, кат. № BML-AK111). Нормализованный процент ингибирования (% INH) определяли с использованием «контроля нулевого момента времени» для представления 100% ингибирования и «контроля без антител» для представления 0% INH. «Контроль нулевого момента времени» представляет собой лунку со всеми реагентами, в которой реакция немедленно останавливается, чтобы имитировать условия, при которых фосфат не образуется, а CD39 полностью ингибируется. «Контроль без антител» представляют собой лунку, в которую добавлены все реагенты и клетки, но отсутствуют антитела. Это хорошо имитирует условия, при которых высвобождается максимальное количество фосфата и нет ингибирования CD39. Для определения процента ингибирования: значение «контроля без антител» вычитается из значения анализа и делится на значение «контроля без антител», вычитаемое из значения «контроля нулевого момента времени». Полученное значение умножается на 100, чтобы получить процентное значение. В этом анализе использовали MOLP-8 (линия клеток множественной миеломы человека), SK-MEL-28, первичные человеческие В-клетки (выделенные из цельной крови) или первичные человеческие моноциты (выделенные из цельной крови).

[00263] Как показано на **Фиг. 2A** (антитела до созревания аффинности) и **Фиг. 2B** (антитела с созревшей аффинностью), обработка клеток SK-MEL-28 10 мкг/мл антител к CD39 или контрольных антител IgG1, как указано, приводила к ингибированию ферментативной активности CD39.

[00264] Как показано на **Фиг. 2C** (антитела до созревания аффинности) и **Фиг. 2D** (оптимизированные антитела), обработка клеток MOLP-8 10 мкг/мл антител к CD39 или контрольных антител IgG1, как указано, приводила к ингибированию ферментативной активности CD39.

[00265] Как показано на **Фиг. 3A** (антитела до созревания аффинности) и **Фиг. 3B** (антитела с созревшей аффинностью), обработка клеток MOLP-8 с диапазоном концентраций антител к CD39 или контрольных антител IgG1 (DNP-C), как указано, в присутствии АТФ приводила к дозозависимому ингибированию активности CD39 всех протестированных антител к CD39. Ингибирование активности CD39 определяли по степени высвобождения неорганического фосфата и выражали в виде % ингибирования (% INH).

[00266] Как показано на **Фиг. 3C** (антитела с созревшей аффинностью IgG4 с единственной мутацией в виде замены серина на пролин в положении 228 (S228P), обозначенные клонами 16-A, 14-A и 13-

А), обработка клеток SK-MEL-28 с диапазоном концентраций антител к CD39 или контрольные антитела IgG4, содержащие ту же единственную мутацию в виде замены серина на пролин в положении 228 (S228P) (DNP.41), как указано, в присутствии АТФ приводили к дозозависимому ингибированию активности CD39. Ингибирование активности CD39 определяли по степени высвобождения неорганического фосфата и выражали в виде % ингибирования (% INH).

[00267] Как показано на **Фиг. 4А** (антитела до созревания аффинности) и **Фиг. 4В** (антитела с созревшей аффинностью), обработка первичных человеческих моноцитов, выделенных из цельной крови, с диапазоном концентраций антител к CD39 или контрольных антител IgG1 (DNP-C), как указано, в присутствии АТФ приводила к дозозависимому ингибированию активности CD39. Ингибирование активности CD39 определяли по степени высвобождения неорганического фосфата и выражали в виде % ингибирования (% INH).

[00268] Как показано на **Фиг. 4С** (антитела до созревания аффинности) и **Фиг. 4D** (антитела с созревшей аффинностью), обработка первичных В-клеток человека, выделенных из цельной крови, с диапазоном концентраций антител к CD39 или контрольным антителом IgG1 (DNP-C), как указано, в присутствии АТФ приводила к дозозависимому ингибированию активности CD39. Ингибирование активности CD39 определяли по степени высвобождения неорганического фосфата и выражали в виде % ингибирования (% INH).

[00269] Взятые вместе, эти результаты демонстрируют, что лечение злокачественных и первичных иммунных клеток антителами к CD39 ингибирует ферментативную активность CD39.

Пример 4. Аффинности связывания антител к CD39

[00270] Аффинность связывания некоторых антител к CD39 (клоны 1-20) определяли путем измерения их кинетических констант (k_a , k_d , K_D) с использованием ForteBio Octet RED384 (Pall Forte Bio Corporation, Менло-Парк, штат Калифорния), как описано ранее (Estep et al. (2013) *Mabs* 5(2):270-278, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки).

[00271] Вкратце, измерения аффинности с использованием ForteBio выполняли путем загрузки IgG в оперативном режиме на сенсоры АНQ. Сенсоры уравнивали в автономном режиме в буфере для анализа в течение 30 минут, а затем контролировали в оперативном режиме в течение 60 секунд для установления исходного уровня. Сенсоры с нагруженными IgG подвергались воздействию 100 нМ антигена в течение 3 минут, а затем переносились в буфер для анализа на 3 минуты для измерения скорости диссоциации. Всю кинетику анализировали с использованием модели связывания 1:1. В качестве антигена использовали свободный от носителя человеческий CD39-His, лишенный трансмембранных доменов (R&D Systems кат. № 4397-EN-010).

[00272] Измерения равновесной аффинности выполняли, как описано ранее (Estep et al., (2013) *Mabs* 5(2):270-278). Равновесное титрование раствора (SET) выполняли в PBS + 0,1% BSA без IgG (PBSF) с антигеном, поддерживаемым на постоянном уровне 10-100 пМ, и инкубировали с 3–5-кратными серийными разведениями антитела, начиная с 5–100 нМ (экспериментальные условия зависят от образца). Антитела (20 нМ в PBS) наносили на планшеты MSD-ECL со стандартным связыванием в течение ночи при 4 °C или при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем планшеты блокировали на 30 мин при встряхивании при 700 об/мин с последующими тремя промывками промывочным буфером (PBSF + 0,05% Tween 20). Образцы SET наносили и инкубировали на планшетах в течение 150 с при встряхивании при 700 об/мин с последующей промывкой. Антиген, захваченный на планшете, детектировали с помощью 250 нг/мл меченого сульфогруппой стрептавидина в PBSF путем инкубации на планшете в течение 3 минут. Планшеты трижды

промывали промывочным буфером и затем считывали на приборе MSD Sector Imager 2400, используя 1x буфер для считывания T с поверхностно-активным веществом. Процент свободного антигена наносили на график в виде функции титрованного антитела в Graphpad Prism и подставляли в квадратное уравнение для получения KD. Для повышения производительности в ходе экспериментов MSD-SET, включая подготовку образцов SET, использовались манипуляционные роботы для работы с жидкостью. Свободный от носителя человеческий CD39-His, лишенный трансмембранных доменов, был биотинилирован и использован в качестве антигена (R&D Systems, кат. № 4397-EN-010). Результаты измерений аффинности Fortebio и MSD для антител к CD39 представлены на **Фиг. 5**.

[00273] Затем ассоциацию и диссоциацию клон 22 с рекомбинантным CD39 человека, мыши, крысы и яванского макака оценивали с помощью анализа биослойной интерферометрии (BLI), который представляет собой не использующую метки технологию, в которой используется оптический аналитический метод, который анализирует интерференционную картину белого света, отраженного от двух поверхностей. Изменения количества молекул, связанных с биосенсором, вызывают сдвиг интерференционной картины, которая измеряется в реальном времени. В текущем анализе использовались 2 различные конфигурации биосенсоров для определения аффинности связывания рекомбинантного CD39 человека, мыши, крысы и яванского макака с клоном 22.

[00274] В первой конфигурации биосенсор для захвата кристаллизующегося фрагмента (Fc) иммуноглобулина G (IgG) человека (АНС) был использован сначала для захвата 1 мкг/мл клон 22 в качестве лиганда на 8 биосенсоров, а затем для измерения ассоциации (600 с) и диссоциации (900 с) от 0 до 5 мкг/мл рекомбинантного CD39 от человека, крысы или яванского макака в качестве аналита. Вторая конфигурация требовалась для анализа связывания рекомбинантного CD39 мыши, поскольку антитело положительного контроля было крысиным IgG и не могло связываться с биосенсором АНС. Связывание рекомбинантного мышинового CD39 с клоном 22 анализировали с помощью этой второй конфигурации для достижения прямого сравнения с антителом положительного контроля. Биосенсор второго поколения, реагирующий с аминокислотными группами (AR2G), использовали для первого связывания 20 мкг/мл клон 22 или антитела положительного контроля Duha59 (лиганда) с поверхностью биосенсора путем сшивания первичных аминов на белке в формате 96-луночного планшета на 8 биосенсоров. Затем измеряли ассоциацию (600 с) и диссоциацию (1200 с) рекомбинантного мышинового CD39 (аналита) в диапазоне концентраций от 0 до 5,0 мкг/мл для обоих антител. Конфигурация биосенсора AR2G включала предварительный поисковый эксперимент по загрузке для определения оптимальных условий (pH 5,0 или 6,0) для связывания антител с биосенсором. Оптимальный pH для загрузки как клон 22, так и антител положительного контроля Duha59 составлял pH 6,0. В обеих конфигурациях определяли константы ассоциации (k_a) и константы диссоциации (k_d) и рассчитывали KD для каждого антитела, в котором наблюдали связывание аналита (клон 22 с рекомбинантным CD39 от человека и яванского макака и антитело положительного контроля Duha59 с рекомбинантным мышинным CD39). Параметры кинетического связывания не определяли для взаимодействий, при которых связывание не наблюдалось (клон 22 с рекомбинантным CD39 от мыши и крысы).

[00275] Результаты ассоциации и диссоциации рекомбинантного CD39 человека, мыши, крысы и яванского макака в концентрациях от 0 до 1,25 мкг/мл с концентрацией клон 22 1,0 мкг/мл для человека, крысы и яванского макака и 20 мкг/мл для мыши показаны на **Фиг. 13А-Е**. Окончательные кинетические параметры связывания (K_D , k_a , и k_d) показаны в таблице 2 вместе с параметрами аппроксимации модели связывания (R^2 и χ^2), которые демонстрируют качество соответствия модели данным. Более высокие

концентрации анализата 2,5 и 5,0 мкг/мл (35,7 и 71,4 нМ, соответственно, для рекомбинантного CD39 человека и яванского макака) были значительно выше K_D для связывающего взаимодействия 1:1 (от 0,4 до 1,11 нМ) и проявляли неспецифические эффекты, которые не свидетельствовали о связывающем взаимодействии с клоном 22. Таким образом, эти более высокие концентрации анализата не были включены в расчет K_D .

[00276] **Таблица 2**

Рекомбинантный Анализит	Лиганд	K_D (М)	k_d (1/М*с)	k_a (1/с)	Полный χ^2	Полный R2
CD39 человека	Клон 22	1.11E-09	5.19E-04	4.67E+05	0,5093	0,9878
CD39 мыши	Клон 22	Н/Д				
CD39 мыши	Duha59	1.09E-09	1.39E-03	1.28E+06	0,6137	0,9834
CD39 крысы	Клон 22	Н/Д				
CD39 яванского макака	Клон 22	4.06E-10	3.05E-04	7.51E+05	0,3215	0,9953

Сокращения: Duha59 = клон крысиного антитела к CD39 мыши Duha59, k_a = константа ассоциации, k_d = константа диссоциации, K_D = аффинность связывания, Н/Д = нет данных, rhCD39 = рекомбинантный CD39 человека

Примечание. Значения $R^2 > 0,95$ и значения $\chi^2 < 3,0$ демонстрируют хорошее соответствие модели данным.

[00277] Рекомбинантный CD39 человека и яванского макака демонстрировал сильную аффинность связывания по данным K_D для клона 22 (1,11 и 0,41 нМ, соответственно). Рекомбинантный CD39 мыши и крысы не связывается с клоном 22, на что указывает отсутствие ответа на сенсограммах связывания (Фиг. 13В и Фиг. 13D). В результате кинетические параметры связывания не определялись ни для рекомбинантного крысиного, ни для мышинного CD39. Рекомбинантный CD39 мыши действительно продемонстрировал хорошую аффинность связывания, измеренную по K_D (1,09 нМ), с антителом положительного контроля Duha59.

[00278] Как показано на **Фиг. 13А-13Е**, клон 22 имеет сильную аффинность связывания, измеренную с помощью K_D для рекомбинантного CD39 человека (rhCD39) ($K_D = 1,11$ нМ). Анализ перекрестной реактивности видов для мыши, крысы и яванского макака продемонстрировал, что клон 22 также имеет высокую аффинность к рекомбинантному CD39 яванского макака ($K_D = 0,41$ нМ), но не связывается с рекомбинантным CD39 мыши или крысы.

Пример 5. Антитела к CD39 увеличивают пролиферацию CD4+ Т-клеток

[00279] Чтобы определить эффект лечения антителом к CD39 на CD4+ Т-клетки, определяют степень пролиферации CD4+ Т-клеток *in vitro* в ответ на лечение диапазоном концентраций антител к CD39, как указано, или контрольных антител IgG1 (DNP-C). CD4+ клетки из свежих МКПК из донорской крови человека окрашивали CellTrace Violet перед посевом в 96-луночные планшеты. Клетки инкубировали с 250 мкМ АТФ, гранулами с антителом к CD3/CD28 для стимуляции Т-клеток и антителом к CD39 или контрольным антителом IgG1, как указано, в течение 3 дней, и индекс пролиферации для каждой обработки антителом количественно определяли с помощью проточной цитометрии, измеряя количество CellTrace Violet, оставшегося в клетках. Клетки также окрашивали на CD4 для подтверждения Т-клеточной линии дифференцировки. Как показано на **Фиг. 6А** (антитела до созревания аффинности) и **Фиг. 6В** (антитела с созревшей аффинностью), индекс пролиферации CD4+ Т-клеток в ответ на АТФ увеличивается в присутствии антител к CD39.

Пример 6. Обработка антителом к CD39 приводит к ингибированию роста опухоли на модели ксенотрансплантата MOLP-8 у мышей

[00280] Мышам с ТКИД подкожно вводили опухолевые клетки MOLP-8. На 14-й день мышей ($n = 10-11$ мышей/группа) однократно внутрибрюшинно вводили клон 22 в дозе 10 мг/кг. В указанные моменты времени уровни клона 22 в плазме определяли с помощью ИФА (Фиг. 7А). Опухоли диссоциировали на суспензии отдельных клеток, разделяли и вводили 1 мг/мл клона 22 и AF647-IgG4 (флуоресцентно меченное антитело к IgG4 для обнаружения клона 22) или непосредственно окрашивали AF647-IgG4. Процент (%) занятости мишени (ЗМ) был рассчитан с помощью проточной цитометрии. % ЗМ (среднее значение \pm СОС) для клеток, обработанных AF647-IgG4 в указанные моменты времени, показан на Фиг. 7А. Самкам мышей с ТКИД в возрасте от пяти до 7 недель инъецировали опухолевые клетки MOLP-8 подкожно в правый бок и рандомизировали на 4 группы лечения, когда опухоли достигали среднего объема приблизительно 100 мм³. Группы ($n = 10-11$ мышей/группа) получали в/б либо 30 мг/кг контрольного антитела IgG4 с единственной точечной мутацией в виде замены серина на пролин в положении 228 (DNP.41), либо 3, 10 или 30 мг/кг клона 22 дважды в неделю в течение 3 недель. Опухоли измеряли в 2 измерениях с помощью штангенциркуля два раза в неделю и рассчитывали объемы опухолей. Данные показаны в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего на Фиг. 7В.

Пример 7. Антитело к CD39 увеличивает инфильтрацию макрофагов в опухолях от получавших лечение мышей с ксенотрансплантатом MOLP-8 и уменьшает объем опухоли

[00281] Самкам мышей с ТКИД в возрасте от пяти до 7 недель инъецировали 1×10^7 опухолевых клеток MOLP-8 подкожно в правый бок и рандомизировали на 2 группы лечения, когда опухоли достигали среднего объема приблизительно 100 мм³. Группы ($n = 10-11$ мышей/группа) получали в/б либо 20 мг/кг контрольного антитела IgG4 с единственной точечной мутацией в виде замены серина на пролин в положении 228 (DNP.41), либо 20 мг/кг клона 22 или 60 мг/кг клона 22 дважды в неделю в течение 2 недель. Образцы опухолей от 5-7 животных собирали в конце исследования на 14 день и диссоциировали на суспензии единичных опухолевых клеток с использованием коллагеназы и механической дезагрегации или фиксировали формалином. Диссоциированные опухолевые клетки окрашивали коктейлем мышинных антител (анти-CD45-BV421, анти-CD11b-BV711 и анти-F4/80-AF488) в течение 30 мин при 4 °С и анализировали с помощью проточной цитометрии. Процент CD45+ клеток, которые были дважды положительными как по CD11b, так и по F4/80 считались макрофагами. Данные, которые показаны на Фиг. 8А, представляют собой общий процент макрофагов в выделенных CD45+ клетках, среднее значение \pm СОС. Статистические данные рассчитывали с помощью 2-стороннего непарного t-критерия (* $p < 0,05$). Фиксированные образцы окрашивали на мышинный F4/80, и для количественной оценки использовали алгоритм процента положительных пикселей (среднее значение \pm СОС), как показано на Фиг. 8В. Примеры изображений из различных групп лечения показаны на Фиг. 8С. Как показано на Фиг. 8D, мыши, получавшие 60 мг/кг клона 22, имели уменьшенный объем опухоли по сравнению с изотипическим контролем.

Пример 8. Антитело к CD39 ингибирует ферментативную активность CD39 в опухолях MOLP-8 от получавших лечение мышей

[00282] Самкам мышей с ТКИД в возрасте от пяти до 7 недель инъецировали опухолевые клетки MOLP-8 и делили на 4 группы, 3 группы с лечением и 1 контрольную группу без лечения, через 14 дней после инокуляции опухоли. Мышам вводили внутрибрюшинно однократную дозу 10 мг/кг клона 22 ($n = 2$ мыши/группа). Мышей умерщвляли, и образцы опухолей собирали через 4, 24 и 72 часа после лечения клоном 22. Образцы опухолей помещали в ОКТ, и анализ АТФазы CD39 выполняли на полученных при помощи

криостата срезах ткани, изображенных на **Фиг. 9А**. Сильное окрашивание указывает на высокую активность АТФазы CD39. Программное обеспечение QuPath (v0.1.2) использовалось для количественной оценки активности анализа фермента CD39 *in situ* в образцах опухоли MOLP-8. Представляющие интерес области определяли вручную, чтобы исключить и минимизировать вклад ферментов CD39 мышцы в сигнал (например, сосудистую сеть мышцы) и области со значительными артефактами качества ткани (например, складки ткани). Использовали алгоритм подсчета процента положительных пикселей. Изображения образцов процент положительных пикселей (среднее значение \pm СОС), полученные для различных групп лечения, показаны на **Фиг. 9В**.

Пример 9. Антитело к CD39 ингибирует ферментативную активность CD39 в ткани матки получавших лечение яванских макак

[00283] Яванским макакам вводили носитель, 10 мг/кг, 30 мг/кг и 100 мг/кг клона 22 (по 3 разных животных в каждой дозовой группе). Как показано на **Фиг. 10**, срезы ткани матки сканировали после окрашивания в тесте на АТФазу CD39 (раствор для окрашивания АТФ, 15 минут) от 3 разных животных в каждой дозовой группе. Изображения были аннотированы для различения различных анатомических частей в срезах ткани матки и выделения разной степени активности АТФазы CD39 и ферментативного ингибирования клоном 22 в различных областях ткани.

Пример 10. Антитело к CD39 снижает повышенные системные уровни аденозина в модели ксенотрансплантата H520 у мышей

[00284] Самкам мышей Ncr nu/nu в возрасте от восьми до 12 недель инъецировали 1×10^7 опухолевых клеток H520 подкожно в правый бок и рандомизировали на 3 группы лечения, когда опухоли достигали среднего объема приблизительно 100 мм³. Группы (n = 10 мышей/группа) получали внутривентриально два раза в неделю либо 30 мг/кг контрольного антитела IgG4 S228P (DNP.41), либо 15 или 30 мг/кг клона 22. Дополнительную группу мышей (n = 5) без опухолей добавляли для определения исходного уровня аденозина. Образцы крови у оцениваемых животных собирали на 10 день исследования (без опухоли, n = 5; 30 мг/кг контрольного антитела IgG4 S228P (DNP.41), n = 8; 15 мг/кг клона 22, n = 10; и 30 мг/кг клона 22, n = 9), затем выделяли плазму и анализировали уровни аденозина с помощью ЖХ-МС/МС. Данные представлены как среднее значение \pm СОС уровня аденозина в плазме на **Фиг. 11**. Статистические данные рассчитывали с помощью 2-стороннего непарного t-критерия (* p < 0,05).

Пример 11. Клон 22 антитела к CD39 связывается с CD39 в цельной крови

[00285] Был проведен анализ цельной крови для определения способности клона 22 связывать CD39 с положительными по CD14 и CD19 клетками. Степень связывания определяется титрованием против насыщающей дозы клона 22. Положительные по CD14 и CD19 клетки были выбраны из-за их высокой врожденной экспрессии CD39. 200 мкл цельной крови (WB; Research Blood Components) вносили аликвотами в полипропиленовые планшеты с v-образным дном. Дополнительные 100 мкл были добавлены в первую лунку серийного разведения, всего 300 мкл WB для клона 22. Клон 22 вносили в 300 мкл WB первой лунки для достижения конечной концентрации 200 мкг/мл. Последовательное разведение клона 22 в WB 1:3 осуществляли через планшет, на что указывалось последовательным переносом 100 мкл крови из лунки в лунку через планшет. Последовательное титрование клона 22 инкубировали при комнатной температуре в течение 60 минут, после чего во все лунки образца добавляли 200 мкг/мл внутреннего стандарта клона 22, который будет использоваться в качестве контроля «максимальной занятости». Это также иногда называют лунками «внутреннего стандарта». Весь планшет дополнительно инкубировали при комнатной температуре в течение дополнительных 60 минут, чтобы дать возможность лункам «внутреннего стандарта»

инкубироваться. Затем во все лунки при перемешивании вводили 200 мкл буфера для лизиса АСК (Life Technologies, кат. № A10492-01). Планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут, вращали со скоростью 2000 об/мин в течение 5 минут, а затем фракцию эритроцитов лизировали и удаляли из планшета. Свежие 200 мкл буфера для лизиса АСК добавляли во все лунки при перемешивании и немедленно центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут. 200 мкл PBS добавляли в лунки при перемешивании на этапе промывки и сразу же центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 минут. Отбирали 100 мкл PBS для ресуспендирования всех образцов и переноса их в 96-луночный планшет из полистирола с V-образным дном. 100 мкл Human TruStain FcX™ (BioLegend, кат. № 422302) добавляли во все лунки при разведении 1:50. Планшет инкубировали при 4 °С в течение 15 минут. Готовили раствор конъюгированного с FITC антитела к CD14 человека (BioLegend, кат. № 367166), конъюгированного с Brilliant Violet 421™ антитела к CD19 человека (BioLegend, кат. № 302234) и конъюгированного с PE мышшиного антитела к IgG4-pFc' человека (Southern Biotech, кат. № 9190-09) в PBS. Анти-CD14 и анти-CD19 разводили 1: 100. Антитело к IgG4 человека разводили 1: 250. Во все лунки добавляли сто микролитров раствора анти-CD14, анти-CD19 и анти-IgG4. Аналогичным образом готовили дополнительные лунки для индивидуального окрашивания для проточной цитометрии на анти-CD14, анти-CD19 и анти-IgG4. Антитела для проточной цитометрии инкубировали при 4 °С в течение 30 минут. Планшет немедленно вращали при 1500 об/мин в течение 5 минут. Во все лунки добавляли 125 мкл буфера для FACS. Клетки анализировали на системе проточного цитометра Fortessa X20. Процентные значения занятости рецепторов (RO) были рассчитаны как [% RO = геом. СИФ образца / геом. СИФ внутреннего стандарта].

[00286] **На Фиг. 12А-Д** показано, что клон 22 связывается с моноцитами (Фиг. 12А) и В-клетками (Фиг. 12В) в цельной крови дозозависимым образом с соответствующим окном сигнала. Процент занятости мишени (ЗМ) был легко рассчитан путем сравнения титров дозы клона 22 с насыщающим «внутренним стандартом» клона 22 в качестве контроля «максимальной занятости» на моноцитах (Фиг. 12С) и В-клетках (Фиг. 12Д).

[00287] Отдельно клетки цельной крови предварительно обрабатывали клоном 22 в течение 1 часа. Цельную кровь лизировали эритроцитами, а затем добавляли 25 мкМ АТФ для наблюдения за гидролизом АТФ. Оставшийся АТФ определяли количественно с помощью CellTiterGlo™. Контроль «низкое ингибирование» (0%) был установлен без АТФ. Контроль «высокое ингибирование» (100%) был установлен при насыщающем количестве клона 22. Процент (%) ингибирования рассчитывали как отношение образца к контролю с высоким ингибированием, как показано на Фиг. 12Е.

Пример 12. Мышиное антитело к CD39 проявляет кооперативную активность в сочетании с антителом к PD1 в мышшиной модели СТ26

[00288] Мышам линии BALB/C подкожно вводили клетки СТ26. Когда опухоль достигала 80 мм³, мышей (n = 16-18 мышей/группа) внутрибрюшинно вводили изотипический контроль, 20 мг/кг антитела к CD39 мышши, 10 мг/кг антитела к PD-1 мышши или антитела к CD39 мышши, и антитела к PD-1 мышши два раза в неделю в течение трех недель. На Фиг. 14 показаны кривые анализа выживаемости для групп лечения (*p<0,05).

Пример 13. Увеличение количества трижды положительных (PD1, TIM3, Lag3) CD4+ CD39+ клеток, обработанных АТФ и клоном 22

[00289] МКПК одного донора в количестве 100000 клеток на лунку совместно инкубировали с 100000 магнитных частиц Dynabeads на лунку. Во время обработки частицами добавляли 500 мкМ АТФ, 500 мкМ АТФ + 10 мкг/мл клона 22 или не добавляли АТФ. Клеткам давали инкубироваться в течение 5 дней при

37 °C в инкубаторе с 5% CO₂. Клетки анализировали методом проточной цитометрии с использованием следующих клеточных маркеров: CD4-BV421, CD8-BV711, CD39-FITC, PD1-PE, TIM3-APC, и Lag3-PE/Cy7. Количественный анализ определяли как процент (%) клеток, положительных по всем трем маркерам (PD1, TIM3 и Lag3) в гейте CD4+ CD39+. Результаты приведены на **Фиг. 15**.

Пример 14. Комбинированный эффект антитела к CD39 и паклитаксела в модели ксенотрансплантата рака легкого человека H520

[00290] Для определения противоопухолевого эффекта(-ов) объединения CD39 с другим стандартным химиотерапевтическим агентом на модели солидной опухоли противоопухолевую активность антитела к CD39 в комбинации с паклитакселом оценивали в подкожной модели ксенотрансплантата рака легкого человека H520 у бестимусных голых мышей (NCr nu/nu). Вкратце, мышам NCr nu/nu в возрасте 8-12 недель (Charles River Labs) инокулировали при помощи подкожной инъекции в правый бок 1×10^7 опухолевых клеток H520 в 0,1 мл PBS, смешанного с матригелем (1: 1), и рандомизировали на 4 группы лечения, когда опухоли достигали среднего объема, равного приблизительно 60-90 мм³. В группах (n = 10-15 мышей в каждой) внутрибрюшинно (в/б) вводили изотипический контроль (DNP.41), клон 22 в виде монотерапии (600 мкг или 30 мг/кг) два раза в неделю в течение 4 недель или в комбинации с паклитакселом. Паклитаксел вводили внутривенно (в/в) в дозе 10 мг/кг через день (QOD) 5 доз и 20 мг/кг QOD 4 дозы, начиная с 19 дня. Все протестированные антитела были составлены в PBS (Gibco). Исходный раствор паклитаксела готовили в смеси 5% этанол: 5% кремофор EL в 5% декстрозе. Противоопухолевую активность определяли, частично, путем измерения размера опухоли (длины и ширины) с помощью штангенциркуля, и рассчитывали объем опухоли по следующей формуле: $(Д*Ш*Ш)/2$. Массу тела (данные не показаны) и объем опухолей определяли трижды в неделю до 68 дня. Животных умерщвляли, когда они достигли объема опухоли 1800 мм³. Кривые выживаемости Каплана-Мейера были построены для определения общей выживаемости. Для анализа выживаемости был проведен логарифмический ранговый критерий для проверки статистической значимости для каждой группы по сравнению с группой контроля и с группами лечения одним агентом (p < 0,005).

[00291] Кривые выживаемости получавших лечение мышей показаны на **Фиг. 16**. Эти данные демонстрируют, что лечение клоном 22 антитела к CD39 в комбинации с паклитакселом приводит к значительному комбинированному противоопухолевому эффекту, уменьшая объем опухоли в большей степени по сравнению с лечением либо только антителом к CD39, либо только паклитакселом, и значительно повышение выживаемости. Лечение всеми тестируемыми антителами (анти-CD39 и паклитакселом) в комбинации продемонстрировало статистически значимую противоопухолевую эффективность по сравнению с изотипическим контролем (p < 0,05).

Пример 15. Влияние мышинных антител к CD39 на лимфоциты, инфильтрирующие опухоль в мышинной модели СТ26

[00292] Мышам линии BALB/C, имеющим колоректальные опухоли СТ26, с частотой два раза в неделю трижды вводили 20 мг/кг мышинного антитела к CD39 (день 11) перед тем, как опухоли удаляли и диссоциировали для анализа методом проточной цитометрии. CD45+ клетки окрашивали антителами, нацеленными на следующие маркеры, для идентификации популяций опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TIL): CD3, CD4, CD8, CD25, CD27, CD39, CD45, F4/80, NKp46, FOXP3, и CD279. Анализ методом проточной цитометрии был выполнен с использованием Flowjo V10. Эффекты показаны для CD8+ Т-клеток (**Фиг. 17А**), CD4+ Т-клеток (**Фиг. 17В**) и Трег (**Фиг. 17С**). Влияние на объем опухоли по сравнению с изотипическим контролем показано на **Фиг. 17D**.

Пример 16. Комбинированный эффект антитела к CD39 и гемцитабина на модели биоптата опухоли

PDAC человека

[00293] Биоптаты опухоли брали у восьми пациентов с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы (PDAC) и разделяли на четыре разных образца каждый. Четыре образца из каждого биоптата опухоли обрабатывали в четырех различных условиях: 1) носитель + изотипический контроль, 2) гемцитабин + изотипический контроль, 3) носитель + клон 22 и 4) гемцитабин + клон 22. Через 24 часа супернатанты проверяли на уровень АТФ. Уровни АТФ увеличивались в группах, подвергшихся воздействию клона 22 при применении в виде монотерапии или в комбинации с гемцитабином, как показано на **Фиг. 18**.

Пример 17. Синергетический эффект блокады антителом к CD39 и антителом к CD47 антител на мышинной модели множественной миеломы человека MOLP-8

[00294] Для определения противоопухолевого эффекта(-ов) блокирования как CD39, так и CD47, противоопухолевую активность антитела к CD39, клон 22, в комбинации с антителом к CD47 (SEQ ID NO: 40004 (тяжелая цепь, содержащая константную область человеческого IgG4 дикого типа); SEQ ID NO: 40005 (легкая цепь)) оценивали на подкожной модели ксенотрансплантата множественной миеломы человека MOLP-8 у мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (ТКИД). Также была определена способность комбинации увеличивать выживаемость. Вкратце, мышам с ТКИД в возрасте 6-8 недель (Charles River Labs) инокулировали подкожной инъекцией в правый бок 1×10^7 опухолевых клеток MOLP-8 в 0,1 мл PBS, смешанного с матригелем (1: 1), и рандомизировали на 4 группы лечения, когда опухоли достигали среднего объема примерно 100 мм^3 . Группы (n = 10 мышей в каждой) получали внутривентриально (в/б) изотипический контроль (моноклональный человеческий IgG4 (IgG4-A)), только клон 22 (400 мкг или 20 мг/кг) два раза в неделю в течение 3 недель, только антитело к CD47 (60 мкг или 3 мг/кг) один раз в неделю в течение 3 недель или получали как клон 22, так и антитело к CD47 в комбинации, для которых проводили введение по той же схеме, что и для монотерапии. Все протестированные антитела были составлены в PBS (Gibco). Противоопухолевую активность определяли, частично, путем измерения размера опухоли (длины и ширины) с помощью штангенциркуля, и рассчитывали объем опухоли по следующей формуле: $(D \cdot \Pi \cdot \Pi) / 2$. Массу тела (данные не показаны) и объем опухолей определяли дважды в неделю до 18 дня. Для анализа объема опухоли выполняли односторонний дисперсионный анализ для проверки статистической значимости для каждой группы по сравнению с контролем ($p < 0,005$). Для анализа выживаемости мышей умерщвляли на 18-й день либо когда объем опухоли достигал 1000 мм^3 , либо когда опухоли становились некротическими. Статистические данные о выживаемости анализировали с использованием кривых Каплана-Мейера, а значимость рассчитывали с использованием логарифмического рангового критерия (Мантел-Кокса) ($p < 0,005$).

[00295] Средние объемы опухолей и процент выживаемости получавших лечение мышей показаны на **Фиг. 19А** и **Фиг. 19В**, соответственно. Эти данные демонстрируют, что лечение антителом к CD39, клоном 22, в комбинации с антителом к CD47 приводит к синергетическому противоопухолевому эффекту, уменьшению объема опухоли и увеличению выживаемости мышей в большей степени по сравнению с лечением любым антителом в виде монотерапии. Лечение всеми тестируемыми антителами, по отдельности или в комбинации, продемонстрировало статистически значимую противоопухолевую эффективность по сравнению с изотипическим контролем ($p < 0,005$). Неблагоприятного влияния на массу тела не наблюдали ни в одной из групп (данные не показаны).

Пример 18. Влияние мышинных антител к CD39 и антител к PD1 на опухолевое микроокружение в мышинной модели опухоли CT26

[00296] Влияние антитела к CD39 отдельно и в комбинации с лечением антителом к PD-1 на

иммунные клетки в опухолевом микроокружении (ТМЕ) оценивали на мышинной модели опухоли СТ26.

[00297] Мышей линии BALB/C, имеющих опухоли СТ26, лечили тремя дозами антитела изотипического контроля (400 мкг), антитела к CD39 мыши (400 мкг), антитела к PD-1 мыши (200 мкг) или комбинации антитела к CD39 мыши (400 мкг) и антитела к PD-1 мыши (200 мкг) до сбора опухолей на 9 день; n = 10 на группу. Опухоли извлекали из каждой мыши и подвергали ферментативной диссоциации с помощью комбинированной обработки коллагеназой и ДНКазой с использованием диссоциатора gentleMACS от Miltenyi Biotec (см. Через Интернет по адресу miltenyibiotec.com/US-en/products/gentlemacs-dissociator.html#gref). Дебрис и мертвые клетки удаляли после центрифугирования. Клетки ресуспендировали в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM). Иммунные клетки опухолей обогащали с помощью CD45+ магнитных частиц и фиксировали на магнитных колонках.

[00298] Эксперименты с секвенированием одноклеточной РНК (scRNAseq) проводили для оценки иммунных клеток, выделенных из ТМЕ получавших лечение мышей, с использованием стандартного протокола 3' мРНК от 10x Genomics. Вкратце, эмульсии гелевых частиц (GEM) были созданы на микрожидкостном чипе 10X, где образцы клеток обрабатывали маслом и реагентами для ПЦР / баркодирования контролируемым образом, в результате чего получали капли, содержащие отдельные клетки, олигонуклеотиды-баркоды и химические вещества для более поздних этапов ПЦР. Клетки в этих каплях лизируются, и их РНК маркируют баркодами и олигонуклеотидами захвата поли(А) (Chromium Single Cell 3'Reagent Kit от 10X Genomics, CG000183 Rev C). Образцы секвенировали на приборе Illumina NextSeq500.

[00299] На основании результатов scRNAseq данные для отдельных клеток были отнесены к кластерам типов иммунных клеток на основании дифференциальной экспрессии маркеров иммунных клеток (Фиг. 20). Кластерами основных типов клеток были лимфоциты/NK, макрофаги/миелоидные клетки и отрицательные по CD45 клетки. Результаты кластеризации scRNAseq обеспечили адекватное разделение типов клеток в ТМЕ для последующего анализа.

[00300] Увеличение частоты CD45+ клеток в пределах CD8+ и лимфоцитарного кластера клеток из ТМЕ наблюдали у мышей, получавших антитело к PD1, по сравнению с мышами, получавшими антитело изотипического контроля (Фиг. 21А), что указывает на то, что лечение антителом к PD1 увеличило инфильтрацию лимфоцитов в ТМЕ. В соответствии с этими данными, в опухолях мышей, получавших антитело к PD1, показано увеличение плотности CD8+ Т-клеток по иммуногистохимическому окрашиванию (Фиг. 21В и Фиг. 21С). Образцы опухолей обрабатывали с использованием стандартных методов фиксации формалином и заливки парафином (FFPE) и делали срезы толщиной 5 микрон. Иммуногистохимическое окрашивание проводили с использованием специфичного к мыши крысиного моноклонального антитела к CD8 (клон 4SM15, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, штат Массачусетс) в разведении 1:50 с использованием прибора для автоматического окрашивания Leica Bond (Leica Biosystems, Буффало Гроув, штат Иллинойс). Окрашенные микропрепараты сканировали цифровым способом с использованием сканера Aperio Versa (Leica Biosystems, Буффало Гроув, штат Иллинойс). Чтобы получить плотность CD8+ Т-клеток, количественный анализ изображений выполняли с использованием модуля мультиплексного ИГХ в программном пакете HALO версии 3.0.311.228 (Indica Labs, Альбукерке, штат Нью-Мексико).

[00301] Результаты анализа методом scRNAseq показали увеличение кратности изменения в количестве миелоидных клеток и NK-клеток у мышей, получавших антитело к CD39, по сравнению с мышами, получавшими антитело изотипического контроля (Фиг. 22), что указывает на то, что лечение антителом к CD39 увеличивало инфильтрацию врожденных клеток в ТМЕ. Было замечено, что популяции клеток, экспрессирующие рецептор P2X7, который при активации может индуцировать высвобождение АТФ,

отвечала на лечение.

[00302] Также было обнаружено, что лечение антителом к CD39 повышает экспрессию генов гамма-интерферонового (IFN γ) ответа в опухоль-ассоциированных макрофагах. Макрофаги были идентифицированы как субпопуляция клеток из набора данных scRNAseq на основе экспрессии антигена F4/80. Анализ дифференциальной экспрессии выполняли для идентификации наборов генов, которые более высоко экспрессировались в ТМЕ мышей, получавших антитело к CD39 и изотипический контроль. Наиболее обогащенные гены были связаны с повышенным IFN γ ответом (Фиг. 23А), демонстрируя, что иммунный ответ развился или наблюдался после лечения антителом к CD39. Данные из всех образцов были объединены с использованием Seurat версии 3. Затем клетки были кластеризованы с использованием уменьшения размерности UMAP, идентифицируя приблизительно 20 отдельных кластеров клеток (Фиг. 23В). График на Фиг. 23 был сгенерирован из всего набора данных с использованием следующего кода:

```
data <- RunUMAP(data, reduction = "pca", dims = 1:significant_PC, verbose = FALSE)
UMAP_coloredby_cluster <- DimPlot(data, reduction = "umap", label = TRUE)
UMAP_coloredby_cluster
```

[00303] В таблице 3 ниже показаны наиболее вариабельные гены в каждом кластере клеток.

Таблица 3.

Ген	Кластер	Log кратности изменения	p-значение	PCA1	PCA2
Ccl8	0	2,3168896	0,00E+00	0,701	0,146
Apoe	0	2,2393643	0,00E+00	0,937	0,237
C1qa	0	2,2014202	0,00E+00	0,932	0,164
C1qb	0	2,0741145	0,00E+00	0,906	0,149
C1qc	0	1,9959198	0,00E+00	0,878	0,128
Arg1	0	1,7524871	0,00E+00	0,409	0,058
Lgmn	0	1,737906	0,00E+00	0,848	0,171
Ms4a7	0	1,7373085	0,00E+00	0,663	0,092
Lyz2	0	1,7336814	0,00E+00	0,986	0,341
Ccl7	0	1,679002	0,00E+00	0,696	0,136
Cd3g	1	1,8866825	0,00E+00	0,81	0,171
Cxcr6	1	1,7092964	0,00E+00	0,448	0,062
Cd8a	1	1,6728946	0,00E+00	0,474	0,068
Trbc2	1	1,657806	0,00E+00	0,775	0,206
Cd3d	1	1,5944058	0,00E+00	0,575	0,117
Cd8b1	1	1,5487759	0,00E+00	0,436	0,07
Pdcd1	1	1,4021161	0,00E+00	0,349	0,055
Ccl5	1	1,3945259	0,00E+00	0,511	0,238
Trac	1	1,386156	0,00E+00	0,409	0,081
Nkg7	1	1,3523928	0,00E+00	0,846	0,312
Gzma	2	2,2895114	0,00E+00	0,791	0,129
Ctla2a	2	1,5998326	0,00E+00	0,784	0,237

Ncr1	2	1,4823334	0,00E+00	0,344	0,05
Gzmb	2	1,4429917	0,00E+00	0,731	0,256
Xcl1	2	1,4423387	0,00E+00	0,296	0,068
Txk	2	1,2925944	0,00E+00	0,44	0,127
Gzmc	2	1,2601545	0,00E+00	0,344	0,076
Ctsw	2	1,2167888	0,00E+00	0,392	0,112
Car2	2	1,205531	0,00E+00	0,268	0,048
AW112010	2	1,0909183	0,00E+00	0,954	0,651
Ogn	3	2,476344	0,00E+00	0,662	0,017
Mgp	3	2,4366741	0,00E+00	0,347	0,012
Dcn	3	2,3669042	0,00E+00	0,492	0,016
Aspn	3	2,1505621	0,00E+00	0,568	0,01
Col1a2	3	2,0605998	0,00E+00	0,705	0,052
Cyr61	3	2,0287407	0,00E+00	0,569	0,032
Fosb	3	1,9822744	0,00E+00	0,847	0,221
Tmem176a	3	1,9170166	0,00E+00	0,689	0,086
Tmem176b	3	1,9045199	0,00E+00	0,738	0,104
Cald1	3	1,9027519	0,00E+00	0,684	0,062
Il1b	4	1,9732185	0,00E+00	0,762	0,215
Thbs1	4	1,9261186	0,00E+00	0,37	0,044
Cxcl2	4	1,6052605	0,00E+00	0,688	0,254
Clec4e	4	1,4501999	0,00E+00	0,361	0,072
Cd14	4	1,3572954	0,00E+00	0,59	0,217
Ms4a4c	4	1,2103303	0,00E+00	0,465	0,172
Ptgs2	4	1,1538446	0,00E+00	0,313	0,131
Plac8	4	1,1348997	0,00E+00	0,781	0,477
Ccl9	4	1,1059549	0,00E+00	0,438	0,176
Cxcl10	4	1,1312562	1.03E-259	0,262	0,137
Tm4sf1	5	1,6249885	0,00E+00	0,81	0,082
Timp1	5	1,5111762	0,00E+00	0,588	0,035
Rhox5	5	1,470481	0,00E+00	0,725	0,053
Mt2	5	1,435948	0,00E+00	0,677	0,082
Lgals7	5	1,4258289	0,00E+00	0,573	0,03
Tnfrsf12a	5	1,3805107	0,00E+00	0,659	0,047
Hmga2	5	1,3750333	0,00E+00	0,628	0,038
Rpl39l	5	1,2806529	0,00E+00	0,621	0,034
Mt1	5	1,2660327	0,00E+00	0,826	0,268
Anxa3	5	1,2040939	0,00E+00	0,727	0,133
Gatm	6	1,2499137	0,00E+00	0,747	0,173
Clqc	6	1,2035207	0,00E+00	0,911	0,259
Clqa	6	1,2019306	0,00E+00	0,94	0,299

C1qb	6	1,1728409	0,00E+00	0,925	0,281
Ccl12	6	1,1541201	0,00E+00	0,649	0,165
Top2a	6	1,1297705	0,00E+00	0,666	0,116
Mki67	6	1,1007564	0,00E+00	0,625	0,097
Ctsc	6	1,0590708	0,00E+00	0,948	0,357
Birc5	6	1,0377076	0,00E+00	0,532	0,078
Ube2c	6	0,9993304	0,00E+00	0,474	0,071
Hist1h1b	7	1,6942294	0,00E+00	0,547	0,074
Hmgb2	7	1,6290841	0,00E+00	0,935	0,338
Mki67	7	1,5959674	0,00E+00	0,59	0,1
Top2a	7	1,5748183	0,00E+00	0,643	0,118
2810417H13Rik	7	1,5480054	0,00E+00	0,61	0,104
Stmn1	7	1,4260729	0,00E+00	0,624	0,141
Tubb5	7	1,4140022	0,00E+00	0,882	0,393
Ube2c	7	1,3745421	0,00E+00	0,402	0,075
Trbc2	7	1,2288275	0,00E+00	0,846	0,256
Birc5	7	1,2149915	0,00E+00	0,427	0,083
Tnfrsf4	8	1,412908	0,00E+00	0,251	0,062
Ccr7	8	1,3128144	0,00E+00	0,311	0,056
Satb1	8	1,2846066	0,00E+00	0,407	0,134
Il7r	8	1,2615419	0,00E+00	0,279	0,07
Cd2	8	1,1457939	0,00E+00	0,31	0,092
Ets1	8	1,0442515	0,00E+00	0,415	0,184
Cd3d	8	0,9322417	0,00E+00	0,429	0,171
Vps37b	8	0,9704592	7.30E-294	0,466	0,245
Ikzf2	8	1,1832411	3.53E-243	0,275	0,108
Icos	8	0,9550254	3.91E-208	0,29	0,126
Cst3	9	2,6876227	0,00E+00	0,987	0,628
Naaa	9	1,8725512	0,00E+00	0,641	0,089
H2-Ab1	9	1,7312111	0,00E+00	0,979	0,357
H2-Eb1	9	1,7074564	0,00E+00	0,974	0,348
H2-Aa	9	1,6980918	0,00E+00	0,982	0,356
Gm2a	9	1,5040895	0,00E+00	0,653	0,136
Xcr1	9	1,4764954	0,00E+00	0,358	0,004
Cd74	9	1,4400809	0,00E+00	0,99	0,435
Plbd1	9	1,3989306	0,00E+00	0,553	0,101
Ifitm1	9	1,3490328	3.06E-156	0,331	0,172
Gzma	10	1,6582521	0,00E+00	0,854	0,187
Stmn1	10	1,5492092	0,00E+00	0,719	0,148
Hmgb2	10	1,5243548	0,00E+00	0,93	0,351

Hist1h1b	10	1,4670358	0,00E+00	0,52	0,085
2810417H13Rik	10	1,461466	0,00E+00	0,62	0,114
Mki67	10	1,3758438	0,00E+00	0,574	0,11
Top2a	10	1,3152939	0,00E+00	0,599	0,13
Gzmc	10	1,2718773	0,00E+00	0,465	0,097
Tubb5	10	1,246692	0,00E+00	0,879	0,403
Xcl1	10	1,2360102	0,00E+00	0,408	0,085
S100a9	11	3,9735976	0,00E+00	0,976	0,025
S100a8	11	3,212785	0,00E+00	0,868	0,028
G0s2	11	2,3877348	0,00E+00	0,659	0,007
Hdc	11	1,489219	0,00E+00	0,421	0,016
Il1b	11	1,4709789	0,00E+00	0,917	0,241
Cxcl2	11	1,4269986	0,00E+00	0,907	0,273
Irg1	11	1,1824776	0,00E+00	0,49	0,116
Il1r2	11	1,1778567	0,00E+00	0,322	0,031
Rsad2	11	1,1508371	0,00E+00	0,332	0,073
Ccl3	11	1,078948	0,00E+00	0,501	0,162
Klk1	12	2,9407446	0,00E+00	0,69	0,001
Siglech	12	2,7625311	0,00E+00	0,731	0,002
Ccr9	12	2,6723493	0,00E+00	0,676	0,002
Slpi	12	2,5504225	0,00E+00	0,564	0,022
Cox6a2	12	2,3005591	0,00E+00	0,515	0,003
Rnase6	12	2,140364	0,00E+00	0,556	0,025
Tcf4	12	2,0934095	0,00E+00	0,754	0,149
St8sia4	12	1,9286392	0,00E+00	0,621	0,087
Mef2c	12	1,8767946	0,00E+00	0,552	0,071
Igkc3	12	1,7699907	0,00E+00	0,358	0,003
Gzmd	13	3,6010458	0,00E+00	0,945	0,044
Gzmf	13	3,5805919	0,00E+00	0,542	0,048
Gzmg	13	3,4254773	0,00E+00	0,431	0,007
Gzmc	13	3,4018323	0,00E+00	0,982	0,089
Gzme	13	3,0049935	0,00E+00	0,875	0,036
Gzma	13	2,0634696	0,00E+00	0,947	0,19
Spp1	13	1,8116956	0,00E+00	0,975	0,475
Gzmb	13	1,6022698	0,00E+00	0,925	0,298
Car2	13	1,5864498	0,00E+00	0,652	0,062
Ctla2a	13	1,4785427	0,00E+00	0,946	0,287
Igkc	14	3,7133022	0,00E+00	0,832	0,015
Ebf1	14	2,1859315	0,00E+00	0,521	0,003
Cd79a	14	1,9989827	0,00E+00	0,464	0,002

Ms4a1	14	1,8353139	0,00E+00	0,4	0,002
Ighm	14	1,710271	0,00E+00	0,439	0,093
Cd79b	14	1,6936116	0,00E+00	0,343	0,01
Mef2c	14	1,615267	0,00E+00	0,495	0,073
Mzb1	14	1,4672477	0,00E+00	0,261	0,006
Satb1	14	1,2327734	0,00E+00	0,477	0,138
Dmxl1	14	1,020235	2.62E-178	0,257	0,079
Cma1	15	5,1701725	0,00E+00	0,959	0,009
Tpsab1	15	4,6569614	0,00E+00	0,854	0,006
Cpa3	15	4,4827099	0,00E+00	0,909	0,003
Mcpt4	15	4,3467735	0,00E+00	0,802	0,002
Tpsb2	15	4,0374796	0,00E+00	0,842	0,003
Serpinb1a	15	3,0235356	0,00E+00	0,718	0,014
Hdc	15	2,4511404	0,00E+00	0,6	0,022
Fcer1a	15	2,3809022	0,00E+00	0,504	0,001
Ctsg	15	2,3213802	0,00E+00	0,361	0,001
Cyp11a1	15	2,3137841	0,00E+00	0,488	0,001
Col1a2	16	1,0607779	0,00E+00	0,73	0,113
Fosb	16	1,0165505	0,00E+00	0,908	0,279
Ogn	16	0,972495	0,00E+00	0,608	0,078
Fnl	16	0,9469112	0,00E+00	0,811	0,176
Cyr61	16	0,9414953	0,00E+00	0,572	0,083
Dcn	16	0,9129313	0,00E+00	0,441	0,061
Tmem176b	16	0,825046	0,00E+00	0,746	0,163
Egr1	16	0,9363004	5.73E-287	0,834	0,247
Klf4	16	0,8515272	4.84E-251	0,772	0,229
Neat1	16	0,8415144	8.79E-201	0,911	0,388
mt-Cytb	17	1,9028675	0,00E+00	1	0,958
mt-Nd2	17	1,8390858	0,00E+00	1	0,92
mt-Nd4	17	1,712595	0,00E+00	1	0,922
mt-Atp6	17	1,68546	0,00E+00	1	0,998
mt-Co2	17	1,5856967	0,00E+00	1	0,995
mt-Co3	17	1,5489455	0,00E+00	1	0,998
mt-Nd1	17	1,7418684	6.67E-304	1	0,899
mt-Nd3	17	1,7583281	6.69E-274	0,957	0,542
mt-Nd5	17	1,6035868	3.50E-219	0,89	0,484
mt-Nd4l	17	1,5274672	2.51E-171	0,669	0,247
Il12b	18	2,648173	0,00E+00	0,397	0,002
Tbc1d4	18	2,5468174	0,00E+00	0,722	0,025
Ccl22	18	2,533914	0,00E+00	0,537	0,003
Fscn1	18	2,4947644	0,00E+00	0,585	0,02

Ccr7	18	2,4726716	0,00E+00	0,804	0,062
Cacnb3	18	1,7793511	0,00E+00	0,415	0,007
Tmem123	18	1,8677586	2.14E-232	0,64	0,125
Cst3	18	2,2128509	1,60E-184	0,96	0,638
Ccl5	18	2,0516679	2.07E-170	0,815	0,274
Epsti1	18	1,7665033	1.02E-107	0,447	0,112
Ctsk	19	4,2669091	0,00E+00	0,782	0,003
Acp5	19	3,9139649	0,00E+00	0,924	0,028
Mmp9	19	3,5317529	0,00E+00	0,731	0,006
Atp6v0d2	19	1,9512049	0,00E+00	0,655	0,002
Lpl	19	1,8999571	0,00E+00	0,706	0,028
Slc9b2	19	1,7372816	0,00E+00	0,538	0,003
Jdp2	19	1,5506153	2.04E-254	0,613	0,035
Chchd10	19	1,5819746	4.09E-194	0,655	0,052
Atp6v1b2	19	1,6378957	2.43E-123	0,731	0,099
Ifi30	19	1,5867604	1.26E-84	0,933	0,245
Fabp4	20	3,9112285	0,00E+00	0,443	0,01
Sparc	20	3,5385908	0,00E+00	0,918	0,05
Igfbp7	20	3,2347598	0,00E+00	0,918	0,015
Igfbp3	20	2,7632253	0,00E+00	0,392	0
Bgn	20	2,6396611	0,00E+00	0,557	0,016
Colla1	20	2,9717075	3.28E-238	0,464	0,018
Col3a1	20	3,3234652	2.39E-125	0,485	0,037
Rarres2	20	2,7169551	4.70E-103	0,515	0,051
Timp1	20	2,8844734	2.51E-76	0,505	0,064
Cxcl14	20	2,7988039	6.40E-59	0,371	0,044

[00304] IFN γ ответ дополнительно оценивали в группах лечения. Для каждой группы лечения опухоль-ассоциированные макрофаги были идентифицированы на основе экспрессии антигена F4/80. Баллы для сигнатуры IFN γ рассчитывали, принимая среднее значение экспрессии сигнатурных генов IFN γ в кластере клеток, идентифицированных как макрофаги, на основе экспрессии F4/80. Лечение комбинацией антитела к CD39 мыши и антитела к PD-1 мыши показало увеличение ответа IFN γ по сравнению с ответом, наблюдаемым для лечения только антителом к CD39 мыши или только антителом к PD-1 мыши (Фиг. 24). Эти данные показали, что лечение антителом к CD39 усиливает ответ на антитело к PD1.

[00305] Функциональный эффект антитела к CD39 на индуцированные антителом к PD1 эффекты на TME дополнительно оценивали для разных типов клеток в TME. Наблюдалось, что комбинация лечения антителом к CD39 и антителом к PD1 наиболее сильно изменяет индуцированные антителом к PD1 эффекты на TME в инфильтратах дендритных клеток и лимфоцитов (Фиг. 25).

[00306] Хотя вышеизложенное изобретение было описано довольно подробно посредством иллюстрации и примера в целях ясности понимания, описания и примеры не следует истолковывать как ограничивающие объем изобретения. Содержание всей патентной и научной литературы, цитируемой в

данном документе, явным образом и в полном объеме включено посредством ссылки.

V. Таблица последовательностей

SEQ ID NO	Номер клона	Описание	Последовательность
1	1	VH CDR1	GTFSSY AIS
2	1	VH CDR2	SIIPFGTANYAQKFQ G
3	1	VH CDR3	AREAGYYRYRYFDL
4	1	VL CDR1	RASQSVSSNLA
5	1	VL CDR2	GASTRAT
6	1	VL CDR3	QQHALWPLT
7	1	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASG
8	1	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
9	1	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
10	1	VH FR4	WGRGTLTVSS
11	1	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGC TATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGCATCAT CCCTATCTTTGGTACAGCAA ACTACGCACAG AAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGG ACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCT GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGATACTAC CGCTACCGATACTTCGACCTATGGGGGAGAG GTACCTTGGTCACCGTCTCCTCA
12	1	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGSIIPFGTANYAQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR EAGYYRYRYFDLWGRGTLTVSS
13	1	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
14	1	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
15	1	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC
16	1	VL FR4	FGGGTKVEIK

17	1	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACCTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCACGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
18	1	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIK
19-100: не используются			
101	2	VH CDR1	GTFSSYAIG
102	2	VH CDR2	GIPIFGTANYAQKFQG
103	2	VH CDR3	ARDPVRRSPFDI
104	2	VL CDR1	RASQSVSSYLA
105	2	VL CDR2	DSSNRAT
106	2	VL CDR3	QQSFLWPRT
107	2	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
108	2	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
109	2	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC
110	2	VH FR4	WGQGTMTVTVSS
111	2	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGC TATGCTATCGGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCA TCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACA GAAGTTCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCG GACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGC TGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATCCGGTGAGAAGA AGCCCATTCGACATATGGGGTCAGGGTACAA TGGTCAACCGTCTCCTCA

112	2	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSY AIGWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDFAVYYCA RDPVRRSPFDIWGQGMVTVSS
113	2	VL FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
114	2	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
115	2	VL FR3	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYC
116	2	VL FR4	FGGGTKVEIK
117	2	ДНК VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATTCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCT CACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTT GCAGTTTATTACTGTCAGCAGTCCTTCCTCTG GCCTAGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAAA
118	2	Белок VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQSFLWPRTFGG GTKVEIK
119-200: не используются			
201	3	VH CDR1	FTFSSYAMS
202	3	VH CDR2	TISGSGGSTYYADSVKG
203	3	VH CDR3	AKGPRYDSSGYRWRYGMDV
204	3	VL CDR1	RASQSISSYLN
205	3	VL CDR2	AASSLQS
206	3	VL CDR3	QQLYVDPPWT
207	3	VH FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
208	3	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
209	3	VH FR3	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDFAVYYC
210	3	VH FR4	WGQGTITVTVSS

211	3	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTACAACCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTC CTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCT ATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAACCATTAGT GGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACT CCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAAGGGCCCCAGATACGACA GCAGCGGATACCGATGGAGATACGGAATGG ACGTATGGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGT CTCCTCA
212	3	Белок VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGPRYDSSGYRWRYGMDVWGQGTTVTVSS
213	3	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
214	3	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
215	3	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
216	3	VL FR4	FGGGTKVEIK
217	3	ДНК VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCAT CACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATC CAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTT AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTT TGCAACTTACTACTGTCAGCAACTATACGTC GACCCTCCTTGGACTTTCGGCGGAGGGACCA AGGTGGAGATCAAA
218	3	Белок VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLYVDPPTWTFG GGTKVEIK
219-300: не используются			
301	4	VH CDR1	FTFSSYAMS
302	4	VH CDR2	AISASGGSTYYADSVKG
303	4	VH CDR3	AKGPRYDSSGYRWRYGMDV
304	4	VL CDR1	RASQSISSYLN

305	4	VL CDR2	AASSLQS
306	4	VL CDR3	QQLALTPYT
307	4	VH FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
308	4	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
309	4	VH FR3	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
310	4	VH FR4	WGQGT TTVTVSS
311	4	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTC CTGTGCAGCCTCTGGATCACCTTTAGCAGCT ATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGT GCTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACT CCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAAGGGCCCCAGATACGACA GCAGCGGATACCGATGGAGATACGGAATGG ACGTATGGGGCCAGGGAACA ACTGTCACCGT CTCCTCA
312	4	Белок VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISASGGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGPRYDSSGYRWRYGMDVWGQGT TTVTVSS
313	4	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC
314	4	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
315	4	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
316	4	VL FR4	FGGGTKVEIK
317	4	ДНК VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCAT CACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATC CAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTT TGCAACTTACTACTGTCAGCAACTAGCCCTC ACTCCTTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAA

318	4	Белок VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLALTPYTFGG GTKVEIK
319-400: не используются			
401	5	VH CDR1	YTFTGYMH
402	5	VH CDR2	WINPNSGGTNYAQKFQG
403	5	VH CDR3	ARDAPFYTWDHYYGMDV
404	5	VL CDR1	QASQDISNYLN
405	5	VL CDR2	DASNLAT
406	5	VL CDR3	QQLYHLPIT
407	5	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASG
408	5	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
409	5	VH FR3	RVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYC
410	5	VH FR4	WGQGTITVTVSS
411	5	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGC TACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCA ACCCTAACAGTGGTGGCACAACTATGCACA GAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGG GACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGC TGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGCTCCTTTCTAC ACCTGGGATCACTACTACGGAATGGACGTAT GGGGCCAGGGAACAACCTGTCACCGTCTCCTC A
412	5	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTG YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAV YYCARDAPFYTWDHYYGMDVWGQGTITVTVS S
413	5	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
414	5	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
415	5	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYC
416	5	VL FR4	FGGGTKVEIK

417	5	ДНК VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCAT CACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAAC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATC CAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAAGGTTC AGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTT TCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATAT TGCAACATATTACTGTCAGCAGCTTACCAC CTCCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA
418	5	Белок VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYL NWYQQKPGKAPKLLIYDASNLATGVPSRFGS GSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQLYHLPITFG GGTKVEIK
419-500: не используются			
501	6	VH CDR1	FTFSSYGMS
502	6	VH CDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG
503	6	VH CDR3	ARDFTRWSHVNWFDP
504	6	VL CDR1	RASQSVSSSLA
505	6	VL CDR2	GASTRAT
506	6	VL CDR3	QYYHHPYT
507	6	VH FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
508	6	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVA
509	6	VH FR3	RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC
510	6	VH FR4	WGQGLTVTVSS
511	6	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTC CTGTGCAGCCTCTGGATCACCTTTAGTAGCT ATGGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAA GCAAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGA CTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAACGCCAAGA AACTCACTGTATCTGCAAA TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGG TGTA TACTGCGCTAGGGATTTCACTAGATG GTCCACGTGAACTGGTTTGATCCCTGGGGA CAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA

512	6	Белок VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYG MSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CARDFTRWSHVNWFDWPWGQGLVTVSS
513	6	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
514	6	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIF
515	6	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC
516	6	VL FR4	FGGGTKVEIK
517	6	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AGCTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTTTGGTGCATCC ACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCCTCT CACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTT GCAGTTTATTACTGTCAGCAGTACTACCACC ACCCTTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
518	6	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSLA WYQQKPGQAPRLLIFGASTRATGIPARFSGSGS GTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQYYHHPYTFGG GTKVEIK
519-600: не используются			
601	7	VH CDR1	YSISSGYYWA
602	7	VH CDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
603	7	VH CDR3	ARGAGHRQFAFDI
604	7	VL CDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
605	7	VL CDR2	WASTRES
606	7	VL CDR3	QQFASSPWT
607	7	VH FR1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSG
608	7	VH FR2	WIRQPPGKGLEWIG
609	7	VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
610	7	VH FR4	WGQGTMTVTVSS

611	7	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGA CTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCA CCTGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGT GGTTACTACTGGGCTTGGATCCGGCAGCCCC CAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTA TCTATCATAGTGGGAGCACCTACTACAACCC GTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTA GACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGC TGAGTTCTGTGACCGCCGACACGCGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGGTGCCGGACACAGA CAGTTCGCATTTCGATATCTGGGGTCAGGGTA CAATGGTCACCGTCTCCTCA
612	7	Белок VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSSGY YWAWIRQPPGKLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR GAGHRQFAFDIWGQGTMTVTVSS
613	7	VL FR1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC
614	7	VL FR2	WYQQKPGQPPELLIY
615	7	VL FR3	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC
616	7	VL FR4	FGGGTKVEIK
617	7	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCC TGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT CAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATAC AGCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGT ACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCT GCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCC GGGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTAC TGTCAGCAGTTCGCCAGTTCCTTGGACTTT TGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
618	7	Белок VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSS NNKNYLAWYQQKPGQPPELLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQCF ASSPWTFGGGTKVEIK
619-700: не используются			
701	8	VH CDR1	GSISSSSYWG
702	8	VH CDR2	SIYYSYSTYYNPSLKS
703	8	VH CDR3	ARGSPYHDFDL
704	8	VL CDR1	RASQSVSSYLA
705	8	VL CDR2	DASNRAT

706	8	VL CDR3	QQRAIWPPT
707	8	VH FR1	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSG
708	8	VH FR2	WIRQPPGKGLEWIG
709	8	VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
710	8	VH FR4	WGRGTLTVSS
711	8	ДНК VH	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGAC TGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCAC CTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT AGTAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGC CCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGA GTATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAA CCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCC GTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGA AGCTGAGTTCTGTGACCGCCGACACACGGC GGTGTACTACTGCGCCAGAGGTTCCCTACA TACCACGACTTCGACCTATGGGGGAGAGGTA CCTTGGTCACCGTCTCCTCA
712	8	Белок VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSY YWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSYSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR GSPTYHDFDLWGRGTLTVSS
713	8	VL FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
714	8	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
715	8	VL FR3	GIPARFSGSGSDFTLTISSEPEDFAVYYC
716	8	VL FR4	FGGGTKVEIK
717	8	ДНК VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATC CAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTT AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGAGAGCCATC TGGCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA
718	8	Белок VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSEPEDFAVYYCQQRAIWPPTFGG GTKVEIK
719-800: не используются			

801	9	VH CDR1	YSISSGYWA
802	9	VH CDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
803	9	VH CDR3	ARGAGHRQFAFDI
804	9	VL CDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
805	9	VL CDR2	WASTRES
806	9	VL CDR3	QQFHFTPWT
807	9	VH FR1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSG
808	9	VH FR2	WIRQPPGKLEWIG
809	9	VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
810	9	VH FR4	WGQGMVTVSS
811	9	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGA CTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCA CCTGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCAGCAGT GGTTACTACTGGGCTTGGATCCGGCAGCCCC CAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTA TCTATCATAGTGGGAGCACCTACTACAACCC GTCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTA GACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGC TGAGTTCTGTGACCGCCGACACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGGTGCCGGACACAGA CAGTTCGCATTCGATATCTGGGGTCAGGGTA CAATGGTCACCGTCTCCTCA
812	9	Белок VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSISGY YWAWIRQPPGKLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR GAGHRQFAFDIWGQGMVTVSS
813	9	VL FR1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC
814	9	VL FR2	WYQQKPGQPPELLIY
815	9	VL FR3	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC
816	9	VL FR4	FGGGTKVEIK
817	9	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCC TGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT CAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATAC AGCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGT ACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCT GCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCC GGGGTCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTAC TGTCAGCAGTTCCACTTCACTCCTTGGACTTT TGCGCGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA

818	9	Белок VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSS NNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQF HFTPWTFGGGTKVEIK
819-900 не используются			
901	10	VH CDR1	GTFSNYAIS
902	10	VH CDR2	GIIPIFGTANYAQKFQG
903	10	VH CDR3	ARPRGDYSGYDAGPIDY
904	10	VL CDR1	RASQSVSSYLA
905	10	VL CDR2	DASNRAT
906	10	VL CDR3	QQRHFHPPT
907	10	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
908	10	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
909	10	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC
910	10	VH FR4	WGQGLVTVSS
911	10	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAAC TATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCA TCCCTATCTTTGGTACAGCAAACACTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCG GACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGC TGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGACCCAGAGGCGACTAC AGCGGATACGACGCAGGTCCCATTGACTACT GGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTC A
912	10	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNY AISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCA RPRGDYSGYDAGPIDYWGQGLVTVSS
913	10	VL FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
914	10	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
915	10	VL FR3	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYC
916	10	VL FR4	FGGGTKVEIK

917	10	ДНК VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATC CAACAGGGCCACTGGCATCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGAGATTCCACT TCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
918	10	Белок VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRHFHPPTFGGG TKVEIK
919-1000 не используются			
1001	11	VH CDR1	GTFSNYAIS
1002	11	VH CDR2	GIPIFGTANYAQKFQG
1003	11	VH CDR3	ARPRGDYSGYDAGPIDY
1004	11	VL CDR1	RASQSVSSYLA
1005	11	VL CDR2	DSSNRAT
1006	11	VL CDR3	QQRFLPIT
1007	11	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
1008	11	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
1009	11	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC
1010	11	VH FR4	WGQGLTVTVSS
1011	11	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAAC TATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCA TCCCTATCTTTGGTACAGCAAACACTACGCACA GAAGTTCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCG GACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGC TGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGACCCAGAGGCGACTAC AGCGGATACGACGCAGGTCCCATTGACTACT GGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTC A

1012	11	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNY AISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDFAVYYCA RPRGDYSGYDAGPIDYWGQGLVTVSS
1013	11	VL FR1	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSC
1014	11	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
1015	11	VL FR3	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC
1016	11	VL FR4	FGGGTKVEIK
1017	11	ДНК VL	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATTCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCT CACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTT GCAGTTTATTACTGTCAGCAGAGATACCTCTT CCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAAA
1018	11	Белок VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRYLEPITFGGG TKVEIK
1019-2000 не используются			
2001	12	VH CDR1	FTFSSYYMQ
2002	12	VH CDR2	YISSSSSTIGYADSVKG
2003	12	VH CDR3	AKGPRYDSSGYRWRYGMDV
2004	12	VL CDR1	RASQSISSYLN
2005	12	VL CDR2	AASSLQS
2006	12	VL CDR3	QQLALTPYT
2007	12	VH FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
2008	12	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
2009	12	VH FR3	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC
2010	12	VH FR4	WGQGTITVTVSS

2011	12	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTC CTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCT ATTATATGCAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGT AGTAGTAGTAGTACCATAGGTTACGCAGACT CTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAATGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAAGGGCCCCAGATACGACA GCAGCGGATACCGATGGAGATACGGAATGG ACGTATGGGGCCAGGGAACAACACTGTCACCGT CTCCTCA
2012	12	Белок VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYY MQWVRQAPGKLEWVSYISSSSTIGYADSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KGPRYDSSGYRWRYGMDVWGQGTITVTVSS
2013	12	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
2014	12	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
2015	12	VL FR3	GVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYC
2016	12	VL FR4	FGGGTKVEIK
2017	12	ДНК VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCAT CACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATC CAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTT AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTT TGCAACTTACTACTGTCAGCAACTAGCCCTC ACTCCTTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA
2018	12	Белок VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLALTPYTFGG GTKVEIK
2019-3000 не используются			
3001	13	VH CDR1	GTFAEYAI
3002	13	VH CDR2	SILPIFGTANYAQKFQG
3003	13	VH CDR3	AREAGYYRYRYFDL
3004	13	VL CDR1	RASQSVSSNLA

3005	13	VL CDR2	GASTRAT
3006	13	VL CDR3	QQHALWPLT
3007	13	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
3008	13	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
3009	13	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYC
3010	13	VH FR4	WGRGTLTVSS
3011	13	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCGCTGAG TATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATCTATCCT TCCTATCTTTGGTACAGCAAACACGCACAG AAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGG ACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCT GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGATACTAC CGTACCGATACTTCGACCTATGGGGGAGAG GTACCTTGGTCACCGTCTCCTCA
3012	13	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFAEY AISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCA REAGYYRYRYFDLWGRGTLTVSS
3013	13	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
3014	13	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
3015	13	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC
3016	13	VL FR4	FGGGTKVEIK
3017	13	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACCTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCAGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
3018	13	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIK

3019-4000 не используются			
4001	14	VH CDR1	GTFASYAIS
4002	14	VH CDR2	SIPEFGIANYAQKFQG
4003	14	VH CDR3	AREAGYYRYRYFDL
4004	14	VL CDR1	RASQSVSSNLA
4005	14	VL CDR2	GASTRAT
4006	14	VL CDR3	QQHALWPLT
4007	14	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
4008	14	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
4009	14	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC
4010	14	VH FR4	WGRGTLTVSS
4011	14	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCGCTAGC TATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATCGATCAT CCCTGAGTTTGGTATTGCAAACACTACGCACAG AAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGG ACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCT GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGATACTAC CGCTACCGATACTTCGACCTATGGGGGAGAG GTACCTTGGTCACCGTCTCCTCA
4012	14	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFASY AISWVRQAPGQGLEWMGSIPEFGIANYAQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR EAGYYRYRYFDLWGRGTLTVSS
4013	14	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
4014	14	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
4015	14	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC
4016	14	VL FR4	FGGGTKVEIK

4017	14	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACCTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCACGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
4018	14	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIK
4019-5000 не используются			
5001	15	VH CDR1	GTFSSYGIS
5002	15	VH CDR2	SIIPQFGTANYAQKFQG
5003	15	VH CDR3	AREAGYYRYRYFDL
5004	15	VL CDR1	RASQSVSSNLA
5005	15	VL CDR2	GASTRAT
5006	15	VL CDR3	QQHALWPLT
5007	15	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
5008	15	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
5009	15	VH FR3	RVTITADESTSTVYMELSSLRSEDYAVYYC
5010	15	VH FR4	WGRGTLTVSS
5011	15	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCTCGAGC TATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATCGATCAT CCCTCAGTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAG AAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGG ACGAATCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCT GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGATACTAC CGCTACCGATACTTCGACCTATGGGGGAGAG GTACCTTGGTCACCGTCTCCTCA

5012	15	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSY GISWVRQAPGQGLEWMGSIIQFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTVYMESSLRSEDFAVYYCA REAGYYRYRYFDLWGRGTLTVSS
5013	15	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
5014	15	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
5015	15	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC
5016	15	VL FR4	FGGGTKVEIK
5017	15	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACCTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCACGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
5018	15	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIK
5019-6000 не используются			
6001	16	VH CDR1	GTFSSNAIG
6002	16	VH CDR2	GIIPAFGTANYAQKFQG
6003	16	VH CDR3	ARDPVRRSFPDI
6004	16	VL CDR1	RASQSVSSYLA
6005	16	VL CDR2	DSSNRAT
6006	16	VL CDR3	QQSFLWPRT
6007	16	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG
6008	16	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
6009	16	VH FR3	RVTITADESTSTAYMESSLRSEDFAVYYC
6010	16	VH FR4	WGQGTMTVTVSS

6011	16	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGC AATGCTATCGGGTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCA TTCCTGCTTTTGGTACAGCAAACCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCG GACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGC TGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATCCGGTGAGAAGA AGCCCATTCGACATATGGGGTCAGGGTACAA TGGTCACCGTCTCCTCA
6012	16	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSN AIGWVRQAPGQGLEWMGGIIPAFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RDPVRRSPFDIWGQGMVTVSS
6013	16	VL FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
6014	16	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
6015	16	VL FR3	GIPARFSGSGTDFLTITISSLEPEDFAVYYC
6016	16	VL FR4	FGGGTKVEIK
6017	16	ДНК VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATTCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCT CACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTT GCAGTTTATTACTGTCAGCAGTCCCTCCTCTG GCCTAGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAAA
6018	16	Белок VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGIPARFSGSGS GTDFTLITISSLEPEDFAVYYCQQSFLWPRTFGG GTKVEIK
6019-7000 не используются			
7001	17	VH CDR1	GTFSGYAIH
7002	17	VH CDR2	GIMPIFGTAAYAQKFQG
7003	17	VH CDR3	ARPRGDYSGYDAGPIDY
7004	17	VL CDR1	RASQSVSSYLA
7005	17	VL CDR2	DASNRAT

7006	17	VL CDR3	QQRFHFPPT
7007	17	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
7008	17	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
7009	17	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYC
7010	17	VH FR4	WGQGLVTVSS
7011	17	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCGGG TATGCTATCCATTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCA TGCCTATCTTTGGTACAGCAGCGTACGCACA GAAGTTCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCG GACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGC TGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGACCCAGAGGCGACTAC AGCGGATACGACGCAGGTCCCATTGACTACT GGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTC A
7012	17	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSGY AIHWVRQAPGQGLEWMGGIMPIFGTAAYAQK FQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYC ARPRGDYSGYDAGPIDYWGQGLVTVSS
7013	17	VL FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
7014	17	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
7015	17	VL FR3	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC
7016	17	VL FR4	FGGGTKVEIK
7017	17	ДНК VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATC CAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGAGATTCCACT TCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
7018	17	Белок VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRFHFPPTFGGG TKVEIK

7019-8000 не используются			
8001	18	VH CDR1	GSISSGGSYWS
8002	18	VH CDR2	AIYYDGSTYYNPSLKS
8003	18	VH CDR3	ARGSPYHDFDL
8004	18	VL CDR1	RASQSVSSYLA
8005	18	VL CDR2	DASNRAT
8006	18	VL CDR3	QQRAIWPPT
8007	18	VH FR1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSG
8008	18	VH FR2	WIRQHPGKGLEWIG
8009	18	VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYC
8010	18	VH FR4	WGRGTLTVSS
8011	18	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGA CTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCA CCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT GGTGGTTCTTACTGGTCTTGGATCCGCCAGC ACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGG CGATCTATTACGATGGGAGCACCTACTACAA CCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCA GTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGA AGCTGAGTTCTGTGACCGCCGAGACACGGC GGTGTACTACTGCGCCAGAGGTTCCCCTACA TACCACGACTTCGACCTATGGGGGAGAGGTA CCTTGGTCACCGTCTCCTCA
8012	18	Белок VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISSGG SYWSWIRQHPGKGLEWIGAIYYDGSTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA RGSPTYHDFDLWGRGTLTVSS
8013	18	VL FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
8014	18	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
4015	18	VL FR3	GIPARFSGSGSGTDFLTITISLEPEDFAVYYC
8016	18	VL FR4	FGGGTKVEIK

8017	18	ДНК VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATC CAACAGGGCCACTGGCATCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGAGAGCCATC TGGCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA
8018	18	Белок VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSELEPDFAVYYCQQRAIWPPTFGG GTKVEIK
8019-9000 не используются			
9001	19	VH CDR1	FTFRSYWMS
9002	19	VH CDR2	TIKQDGSEKFYVDSVKG
9003	19	VH CDR3	ARDFTRWSHVNWFDP
9004	19	VL CDR1	RASQSVSSSLA
9005	19	VL CDR2	GASTRAT
9006	19	VL CDR3	QYYHHPYT
9007	19	VH FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
9008	19	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVA
9009	19	VH FR3	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC
9010	19	VH FR4	WGQGLTVTVSS
9011	19	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTC CTGTGCAGCCTCTGGATCACCTTTCGTAGCT ATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCACGATAAA GCAAGATGGAAGTGAGAAATTTTATGTGGAC TCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAG ACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCTAGGGATTTCACTAGATGG TCCCACGTGAACTGGTTTGATCCCTGGGGAC AGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTCA

9012	19	Белок VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSY WMSWVRQAPGKGLEWVATIKQDGSEKIFYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CARDFTRWSHVNWFDWPWGQGLVTVSS
9013	19	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
9014	19	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIF
9015	19	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC
9016	19	VL FR4	FGGGTKVEIK
9017	19	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AGCTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTTTGGTGCATCC ACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCCTCT CACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTT GCAGTTTATTACTGTCAGCAGTACTACCACC ACCCTTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
9018	19	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSLA WYQQKPGQAPRLLIFGASTRATGIPARFSGSGS GTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQYYHHPYTFGG GTKVEIK
9019-10000 не используются			
10001	20	VH CDR1	GTFSSY AIS
10002	20	VH CDR2	GILPIFGDANYAQKFQG
10003	20	VH CDR3	ARPRGDYSGYDAGPIDY
10004	20	VL CDR1	RASQSVSSYLA
10005	20	VL CDR2	DSSNRAT
10006	20	VL CDR3	QQRYLFPIT
10007	20	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASG
10008	20	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
10009	20	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYC
10010	20	VH FR4	WGQGLVTVSS

10011	20	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGC TATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCTT GCCTATCTTTGGTGATGCAAACCTACGCACAG AAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGG ACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCT GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGACCCAGAGGCGACTAC AGCGGATACGACGCAGGTCCCATTGACTACT GGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTCTCCTC A
10012	20	Блок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGILPIFGDANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RPRGDYSGYDAGPIDYWGQGLVTVSS
10013	20	VL FR1	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSC
10014	20	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
10015	20	VL FR3	GIPARFSGSGSFTDFLTITISSLEPEDFAVYYC
10016	20	VL FR4	FGGGTKVEIK
10017	20	ДНК VL	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATTCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCT CACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTT GCAGTTTATTACTGTCAGCAGAGATACCTCTT CCCTATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAAA
10018	20	Блок VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGIPARFSGSGS GTDFLTITISSLEPEDFAVYYCQQRYLFPITFGGG TKVEIK
10019-20000 не используются			
20001	21	VH CDR1	GTFSSSEGIS
20002	21	VH CDR2	SILPIFGTANYAQKFQG
20003	21	VH CDR3	AREAGYYRYRYFDL
20004	21	VL CDR1	RASQSVSSNLA

20005	21	VL CDR2	GASTRAT
20006	21	VL CDR3	QQHALWPLT
20007	21	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
20008	21	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
20009	21	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYC
20010	21	VH FR4	WGKGLVTVSS
20011	21	ДНК VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGC GAGGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGTATCTT GCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAG AAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGG ACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCT GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAAGCCGGATACTAC CGTACCGATACTTCGACCTATGGGGGAAAG GTACCTTGGTCACCGTCTCCTCA
20012	21	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSE GISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCA REAGYYRYRYFDLWGKGLVTVSS
20013	21	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
20014	21	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
20015	21	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC
20016	21	VL FR4	FGGGTKVEIK
20017	21	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACCTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCAGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
20018	21	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIK

20019	21	Белок тяжелой цепи	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSE GISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCA REAGYYRYRYFDLWGKGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGPPC PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
-------	----	--------------------	---

20020	21	ДНК цепи	тяжелой CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGG TGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTC CTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGC GAGGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTG GACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGTATCTT GCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAG AAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGG ACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCT GAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGT GTACTIONTGCGCCAGAGAAGCCGGATACTAC CGTACCGATACTTCGACCTATGGGGGAAAG GTACCTTGGTCACCGTCTCCTCAGCTTCCACC AAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTC TGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGA GCCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGT GCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCA GCGTCGTGACCGTGCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCAC AAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGG GTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTC CTTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCT TCCGTGTTCTGTTCCTCCAAAGCCCAAGG ACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGT GACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGAA GATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGG ACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCTGCAC CAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAG TGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCA GCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCT GCCTCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAA TCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGGTCAAGGGC TTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGG AGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACA AGACCACCCCTCCCGTGTGACTCCGACGG CTCCTTCTTCTGTACTCTCGGCTGACCGTGG ACAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTT CTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC
-------	----	-------------	--

			AACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC
20021	21	Белок легкой цепи	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
20022	21	ДНК легкой цепи	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCAGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCC GTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCT GAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTG CTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAG TGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGTC CGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGCAG GACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCT CCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACC CACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGT CCTTCAACCGGGGCGAGTGC
20023-30000 не используются			
30001	22	VH CDR1	GTFSSSEGIS
30002	22	VH CDR2	SILPIFGTANYAQKFQG
30003	22	VH CDR3	AREAGYYRYRYFDL
30004	22	VL CDR1	RASQSVSSNLA
30005	22	VL CDR2	GASTRAT
30006	22	VL CDR3	QQHALWPLT
30007	22	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG
30008	22	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
30009	22	VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
30010	22	VH FR4	WGRGTLVTVSS

30011	22	ДНК VH	CAAGTGCAGTTGGTGCAGTCCGGAGCCGAAG TCAAGAAGCCCGGGTTCGAGCGTGAAAGTGTC CTGCAAGGCTTCTGGTGGAACTTCTCAAGC GAAGGGATCAGCTGGGTGAGACAGGCGCCG GGCCAGGGTCTGGAGTGGATGGGTTCCATTC TCCCATCTTCGGAACCGCAATTACGCCCA GAAGTTCAGGGTCGCGTGACCATCACCGCC GACGAAAGCACCTCGACGGCCTATATGGAAT TGTCGTCCCTGCGGTGGAAGATACAGCGGT GTACTACTGTGCGCGGGAAGCCGGGTACTAC CGTACCGTACTTTCGATCTGTGGGGAAGGG GAACTCTCGTGACTGTGTCGAGCG
30012	22	Белок VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSE GISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCA REAGYYRYRYFDLWGRGTLVTVSS
30013	22	VL FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
30014	22	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
30015	22	VL FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC
30016	22	VL FR4	FGGGTKVEIK
30017	22	ДНК VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTT AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCAGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA
30018	22	Белок VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIK

30019	22	Белок тяжелой цепи	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSE GISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCA REAGYYRYRYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGPPC PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG
-------	----	--------------------	---

30020	22	ДНК цепи	тяжелой CAAGTGCAGTTGGTGCAGTCCGGAGCCGAAG TCAAGAAGCCCGGGTTCGAGCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCTTCTGGTGGAACTTCTCAAGC GAAGGGATCAGCTGGGTGAGACAGGCGCCG GGCCAGGGTCTGGAGTGGATGGGTTCATTC TCCCATCTTCGGAACCGCAATTACGCCA GAAGTTCAGGGTCGCGTGACCATCACCGCC GACGAAAGCACCTCGACGGCCTATATGGAAT TGTCGTCCCTGCGGTGGAAGATACAGCGGT GTAATACTGTGCGCGGGAAGCCGGTACTAC CGTACCGTACTTTCGATCTGTGGGAAGGG GAACTCTCGTACTGTGTCGAGCGCCAGCAC CAAGGGACCCAGCGTGTTCGCGTGGCCCT TGTTACGATCCACTTCGAAAGCACCGCTG CCCTGGCTGCCTTGTAAGGACTACTTCCCT GAGCCCGTCACTGTGTCGTGGAACAGCGGAG CTCTGACCTCCGGCGTCCACACTTCCCGGT GTGCTCCAGTCCCTCCGGCCTGACTCACTGTC CTCGGTGGTCACCGTGCCTCCTCCTCCCTCG GTACCAAGACTTATACCTGCAACGTGGACCA CAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGATAAGAG AGTGGAGAGCAAATACGGACCTCCCTGCCCT <u>CCCTGCCCTGCGCCTGAGTTTCTGGGCGGAC</u> CATCCGTCTTCTGTTCCCACCGAAGCCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCGAAG TGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTACAGGA GGACCCTGAAGTGCAGTTTAATTGGTACGTC GACGGCGTGGAAAGTGCATAACGCAAAGACC AAGCCGCGGGAGGAACAGTTCAACTCAACCT ACCGCGTGGTGTCCGTGCTGACTGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTATAA GTGCAAAGTCTCCAACAAGGACTGCCGAGC AGCATCGAGAAAACCATTTCAAAGCCAAG GGCCAGCCGAGAGAGCCCAAGGTGTACTCT TGCCGCGGAGCCAAGAGGAAATGACCAAGA ACCAAGTGTCCCTCACTTGCCTGGTCAAGGG CTTCTACCCGTCGGACATCGCCGTGGAGTGG GAAAGCAACGGCCAGCCGAAAACAACACTAC AAGACTACCCCTCCCGTCCCTCGACTCCGACG GGTCCCTTCTCCTCTACTCCCGGCTGACTGTG GATAAGTCACGGTGGCAGGAGGAAACGTG TTCTCGTGTCCGTGATGCACGAAGCCCTGC
-------	----	-------------	---

			ACAACCACTACACGCAGAAGTCCCTGTCCTT GTCCTGGGG
30021	22	Белок легкой цепи	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNL AWYQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
30022	22	ДНК легкой цепи	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCC TGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCT CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTT TGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCACGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCC GTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCT GAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGCCTG CTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAG TGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGTC CGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGCAG GACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCT CCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACC CACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGT CCTTCAACCGGGGCGAGTGC

30023	22	<p>ДНК тяжелой цепи (5' и 3' сайты рестрикции EcoRV (жирный шрифт), последовательно Козак (курсив); сигнальная последовательно сть (подчеркнутый))</p>	<p><u>GATATCGCCACC</u>ATGGCCTC TCCAGCTCAG <u>CTGCTGTTTC</u> <u>TGCTGCTGCTGTGGCTGCCTGACGGCGTGCA</u> <u>CGCA</u>CAAGTGCAGTTGGTGCAGTCCGGAGCC GAAGTCAAGAAGCCCGGGTCGAGCGTGAAA GTGTCCTGCAAGGCTTCTGGTGGAACTTCTC AAGCGAAGGGATCAGCTGGGTCAGACAGGC GCCGGGCCAGGGTCTGGAGTGGATGGGTTCC ATTCTCCCGATCTTCGGAACCGCCAATTACG CCCAGAAGTTCCAGGGTCGCGTGACCATCAC CGCCGACGAAAGCACCTCGACGGCCTATATG GAATTGTCGTCCCTGCGGTCGGAAGATACAG CGGTGTACTACTGTGCGCGGGAAGCCGGGTA CTACCGCTACCGCTACTTCGATCTGTGGGGA AGGGGAACTCTCGTGACTGTGTGCGAGCGCCA GCACCAAGGGACCCAGCGTGTTCCCGCTGGC CCCTTGTTACGATCCACTTCCGAAAGCACC GCTGCCCTTGGCTGCCTTGTCAAGGACTACTT CCCTGAGCCCGTCACTGTGTGCGTGGAAACAGC GGAGCTCTGACCTCCGGCGTCCACACCTTCC CGGCTGTGCTCCAGTCCTCCGGCCTGTACTCA CTGTCCTCGGTGGTCACCGTGCCTCCTCCTC CCTCGGTACCAAGACTTATACTGCAACGTG GACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGATA AGAGAGTGGAGAGCAAATACGGACCTCCCT GCCCTCCTTGCCTGCGCCTGAGTTTCTGGGC GGACCATCCGTCTTTCTGTTCCACCGAAGCC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCC GAAGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTAC AGGAGGACCCTGAAGTGCAGTTTAATTGGTA CGTCGACGGCGTGGAAGTGCATAACGAAA GACCAAGCCGCGGGAGGAACAGTTCAACTC AACCTACCGCGTGGTGTCCGTGCTGACTGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAG TATAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGACTGC CGAGCAGCATCGAGAAAACCATTTCAAAGC CAAGGGCCAGCCGAGAGAGCCCCAAGTGTA CACTCTGCCGCCGAGCCAAGAGGAAATGACC AAGAACCAAGTGTCCCTCACTTGCCTGGTCA AGGGCTTCTACCCGTCGGACATCGCCGTGGA GTGGGAAAGCAACGGCCAGCCGAAACAA CTACAAGACTACCCCTCCCGTCCCTCGACTCC</p>
-------	----	--	--

			GACGGGTCCTTCTTCTACTCCCGGCTGAC TGTGGATAAGTCACGGTGGCAGGAGGAAA CGTGTTCCTCGTGCTCCGTGATGCACGAAGCC CTGCACAACCACTACACGCAGAAGTCCCTGT CCTTGTCCCTGGGGAAGTAATGAGATATC
30023-39999 не используются			
40000		Константная область человеческого IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
40001		Константная область человеческого IgG4 (отсутствует концевой К)*	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLG-
40002		Константная область человеческого IgG4 (S228P; жирный шрифт) (отсутствует концевой К)*	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRV ESKYGPPC P CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLG-

40003		Константная область человеческого IgG4 (S228P) (L235E) (отсутствует концевой К)*	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCP P CPAPEF E GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG-
40004		Тяжелая цепь антитела к CD47	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGVSIRSIINWWNWVRQPPGKLEWIGIEIYHSGSTNYNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLNSTAAADTAVYYCARDGGIAVTDY Y YGLDVWGQGT T TVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
40005		Легкая цепь анти-CD47	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFNRRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSDWFTFGGGTKVEIKTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
40006		CDR1 VH анти-CD47	SINWWN
40007		Анти-CD47 VH CDR2	EIYHSGSTNYNPSLKS
40008		CDR3 VH анти-CD47	DGGIAVTDY Y YGLDV
40009		Анти-CD47 VL CDR1	RASESVSSNLA

40010		CDR2 VL анти- CD47	GAFNRAT
40011		Анти-CD47 VL CDR3	QQRSDWFT
* Концевой К отщепляется во время экспрессии в клетке, но кодируется в последовательности ДНК			

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20006; или

- xxii) (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30001; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30002; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30003; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30004; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30005; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30006.

2. Выделенное антитело по п. 1, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом:

- i) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18; или
- ii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 112 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 118; или
- iii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 212 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 218; или
- iv) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 312 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 318; или
- v) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 412 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 418; или
- vi) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 512 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 518; или
- vii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 612 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 618; или
- viii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 712 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 718; или

90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9018; или

xx) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10018; или

xxi) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20018; или

xxii) VH по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30012 и VL по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30018.

3. Выделенное антитело по п. 1 или п. 2, отличающееся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом:

- i) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; или
- ii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118; или
- iii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 212, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 218; или
- iv) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 312, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 318; или
- v) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 412, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 418; или
- vi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 512, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 518; или
- vii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 612, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 618; или
- viii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 712, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 718; или
- ix) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 812, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 818; или
- x) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 912, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 918; или
- xi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1018; или
- xii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2018; или
- xiii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3018; или

- xiv) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4018; или
 - xv) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5018; или
 - xvi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6018; или
 - xvii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7018; или
 - xviii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8018; или
 - xix) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9018; или
 - xx) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10018; или
 - xxi) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20018; или
 - xxii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30012, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30018.
4. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что антитело представляет собой клон 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 или его связывающий CD39 фрагмент.
 5. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что указанное антитело представляет собой моноклональное антитело.
 6. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что указанное антитело представляет собой фрагмент антитела, причем этот фрагмент антитела связывает CD39.
 7. Выделенное антитело по п. 6, отличающееся тем, что фрагмент представляет собой Fab, Fab', Fv, scFv или (Fab')₂.
 8. Выделенное антитело по любому из пп. 1-5, отличающееся тем, что антитело представляет собой полноразмерное антитело.
 9. Выделенное антитело по любому из пп. 1-8, отличающееся тем, что область Fc антитела включает IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.
 10. Выделенное антитело по любому из пп. 1-9, отличающееся тем, что антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека.
 11. Выделенное антитело по любому из пп. 1-9, отличающееся тем, что антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека.
 12. Выделенное антитело по п. 11, отличающееся тем, что антитело содержит мутантную константную область тяжелой цепи IgG4 человека.
 13. Выделенное антитело по п. 12, отличающееся тем, что мутантная константная область тяжелой цепи IgG4 содержит мутацию, выбранную из замены в Ser228, замены в Leu235, замены в Asn297 или их комбинации, нумерация в соответствии с нумерацией EU.
 14. Выделенное антитело по п. 12, отличающееся тем, что константная область тяжелой цепи

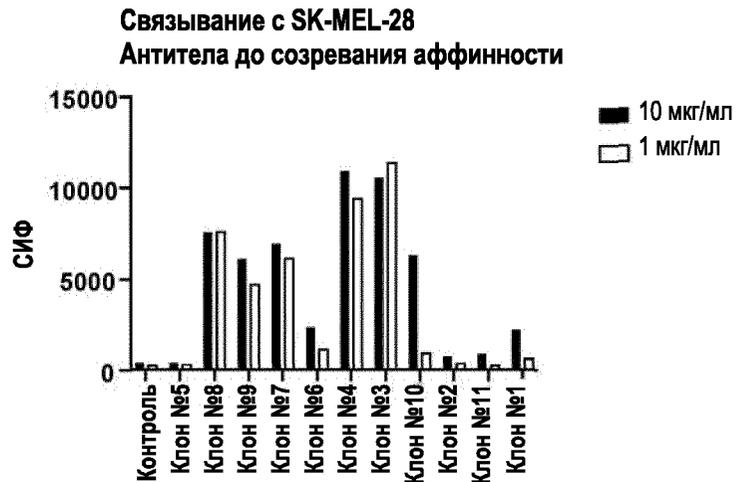
- мутантного IgG4 содержит замену S228P.
15. Выделенное антитело по любому из пп. 1-9 и 11-14, содержащее константную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 40002.
 16. Выделенное антитело по любому из пп. 1-9 и 11-15, содержащее константную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 40003.
 17. Выделенное антитело, содержащее переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 30018 и переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 30012.
 18. Выделенное антитело по любому из пп. 1-16, содержащее легкую каппа-цепь человека.
 19. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что указанное антитело связывается с CD39 и ингибирует его.
 20. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что указанное антитело связывается с CD39 и ингибирует CD39 в нормальной или раковой ткани.
 21. Выделенное антитело по п. 20, отличающееся тем, что ткань находится в матке, шейке матки, легких, предстательной железе, молочной железе, голове, шее, толстой кишке или яичнике.
 22. Выделенное антитело по п. 21, отличающееся тем, что ткань находится в матке.
 23. Выделенное антитело по п. 22, отличающееся тем, что указанное антитело ингибирует CD39 в миометрии указанной матки.
 24. Гуманизованная или полностью человеческая версия антитела по любому из предшествующих пунктов.
 25. Композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1-24 и фармацевтически приемлемый носитель.
 26. Композиция по п. 25, дополнительно содержащая антагонист PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, A2AR, A2BR, двойной антагонист A2AR/A2BR, антагонист CD40 или CD73, и/или антагонист TIGIT, CD112R или CD96, и/или антагонист PVRL1, PVRL2, PVRL3, PVRL4 или CD155, и/или антагонист CD47 или IL-27, и/или агонист STING, и/или препарат на основе CAR-клеток.
 27. Способ усиления, повышения и/или поддержания противоопухолевого иммунного ответа у субъекта, включающий введение антитела по любому из пп. 1-24 или композиции по п. 25 или п. 26 субъекту, имеющему опухоль.
 28. Способ лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающий введение антитела по любому из пп. 1-24 или композиции по п. 25 или п. 26 субъекту, имеющему злокачественное новообразование.
 29. Способ ингибирования CD39 в ткани субъекта, имеющего злокачественное новообразование, включающий введение антитела по любому из пп. 1-24 или композиции по п. 25 или п. 26 субъекту, имеющему злокачественное новообразование, при этом введение снижает активность CD39 или общее количество CD39 в ткани по сравнению с его активностью или количеством до введения.
 30. Способ по п. 28 или п. 29, отличающийся тем, что злокачественное новообразование является распространенным.
 31. Способ по любому из пп. 28–30, отличающийся тем, что злокачественное новообразование является рецидивирующим.
 32. Способ по любому из пп. 28–31, отличающийся тем, что злокачественное новообразование является рефрактерным.

33. Способ по любому из пп. 28–32, отличающийся тем, что злокачественное новообразование является метастатическим.
34. Способ по любому из пп. 28-33, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой распространенную солидную опухоль.
35. Способ по любому из пп. 28-34, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рецидивирующую солидную опухоль.
36. Способ по любому из пп. 28-35, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рефрактерную солидную опухоль.
37. Способ по любому из пп. 28-36, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой метастатическую солидную опухоль.
38. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой карциному, лимфому, бластому, саркому или лейкоз.
39. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы.
40. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.
41. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы.
42. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рак эндометрия.
43. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой немелкоклеточный рак легкого.
44. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой колоректальный рак.
45. Способ по любому из пп. 28-37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рак яичников.
46. Способ по любому из пп. 28–37, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (в том числе плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, колоректальный рак, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечно-клеточную карциному, рак печени, рак предстательной железы, рак влагалища, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, карциному желчного пузыря, рак желудка, меланому или различные типы злокачественных новообразований головы и шеи (в том числе плоскоклеточную карциному головы и шеи).
47. Способ по любому из пп. 27-46, отличающийся тем, что способ дополнительно включает применение второй терапии.
48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой лучевую терапию или хирургическое вмешательство.

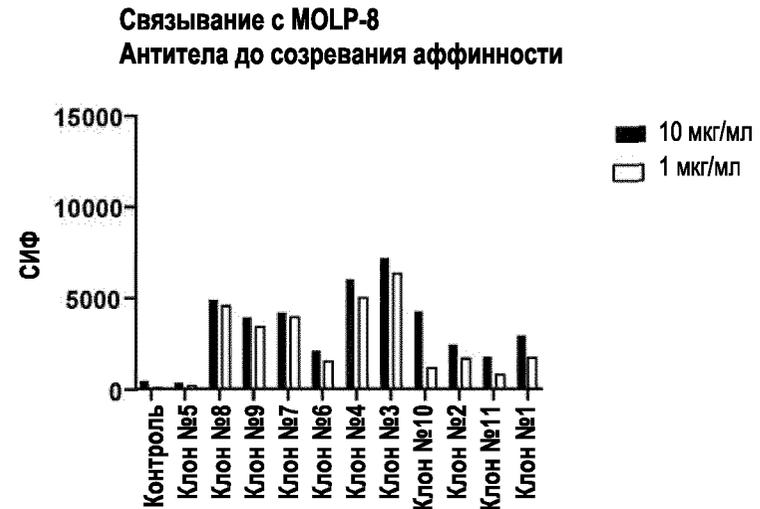
49. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой применение химиотерапии, опсонизирующего агента или агента, истощающего популяцию регуляторных Т-клеток.
50. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста PD-1, PD-L1, CTLA-4, Lag-3, TIM-3, A2AR, A2BR, двойного антагониста A2AR/A2BR, антагониста CD40 или CD73.
51. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста TIGIT, CD112R или CD96.
52. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста PVRL1, PVRL2, PVRL3, PVRL4 или CD155.
53. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста CD47.
54. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста IL-27.
55. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста CD73.
56. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста A2AR.
57. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста A2BR.
58. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение двойного антагониста A2AR/A2BR.
59. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение агониста STING.
60. Способ по любому из пп. 50-58, отличающийся тем, что антагонист представляет собой антитело.
61. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп. 1-24.
62. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 61.
63. Способ получения антитела по любому из пп. 1-24, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 62 в условиях, при которых экспрессируется антитело.
64. Способ по п. 63, дополнительно включающий очистку антитела.
65. Набор, содержащий антитело по любому из пп. 1-24, композицию по п. 25 или п. 26, нуклеиновую кислоту по п. 61, клетку-хозяина по п. 62 или любую их комбинацию.
66. Антитело по пп. 2 или п. 3, отличающееся тем, что K_D для связывания с CD39 человека составляет около 1,11 нМ.
67. Антитело по п. 2 или п. 3, отличающееся тем, что указанное антитело связывается с CD39 человека и CD39 яванского макака, но не связывается с CD39 мыши или CD39 крысы.
68. Способ по п. 53, отличающийся тем, что антагонист CD47 представляет собой антитело к CD47.
69. Способ по п. 68, отличающийся тем, что антитело к CD47 содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом: VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40004, а VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40005.
70. Способ по п. 68, отличающийся тем, что антитело к CD47 содержит: (а) HCDR1, включающую

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40006; (b) HCDR2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40007; (c) HCDR3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40008; (d) LCDR1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40009; (e) LCDR2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40010; и (f) LCDR3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40011.
71. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой гемцитабин и связанный с альбумином паклитаксел.
72. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой пембролизумаб.
73. Способ по пп. 27-46, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает применение комбинации трех противораковых терапий.
74. Способ по п. 73, отличающийся тем, что комбинация трех противораковых терапий включает антитело по любому из пп. 1-24, химиотерапевтический агент и антагонист PD-1 или антагонист PD-L1.
75. Способ по п. 73, отличающийся тем, что комбинация трех противораковых терапий включает антитело по любому из пп. 1-24, химиотерапевтический агент и агент, нацеленный на аденозиновую ось.
76. Способ по п. 73, отличающийся тем, что комбинация трех противораковых терапий включает антитело по любому из пп. 1-24, антагонист PD-1 или антагонист PD-L1 и агент, нацеленный на аденозиновую ось.
77. Способ по п. 75 или п. 76, отличающийся тем, что агент, нацеленный на аденозиновую ось, представляет собой ингибитор CD73.
78. Способ по п. 75 или п. 76, отличающийся тем, что агент, нацеленный на аденозиновую ось, представляет собой антагонист A2AR, антагонист A2BR или двойной антагонист A2AR/A2B.
79. Способ по п. 47, отличающийся тем, что вторая терапия представляет собой введение антагониста PD-1.
80. Способ по п. 79, отличающийся тем, что антагонист PD-1 представляет собой антитело к PD-1.
81. Способ по п. 79 или п. 80, отличающийся тем, что способ приводит к усилению гамма-интерферонового (IFN- γ) ответа в опухолевом микроокружении.
82. Способ по п. 81, отличающийся тем, что увеличение в IFN- γ ответе больше, чем в IFN- γ ответе от введения только антагониста PD-1.
83. Способ по любому из пп. 81-82, отличающийся тем, что IFN- γ ответ представляет собой повышение экспрессии генов, связанных с гамма-интерфероном (IFN- γ), в опухоли-ассоциированных макрофагах в опухолевом микроокружении.
84. Способ по п. 79 или п. 80, отличающийся тем, что способ приводит к инфильтрации клеток врожденного иммунитета в опухолевое микроокружение.
85. Способ по п. 84, отличающийся тем, что клетки врожденного иммунитета представляют собой миелоидные клетки.
86. Способ по п. 84, отличающийся тем, что клетки врожденного иммунитета представляют собой макрофаги.
87. Способ по п. 84, отличающийся тем, что клетки врожденного иммунитета представляют собой НК-клетки.

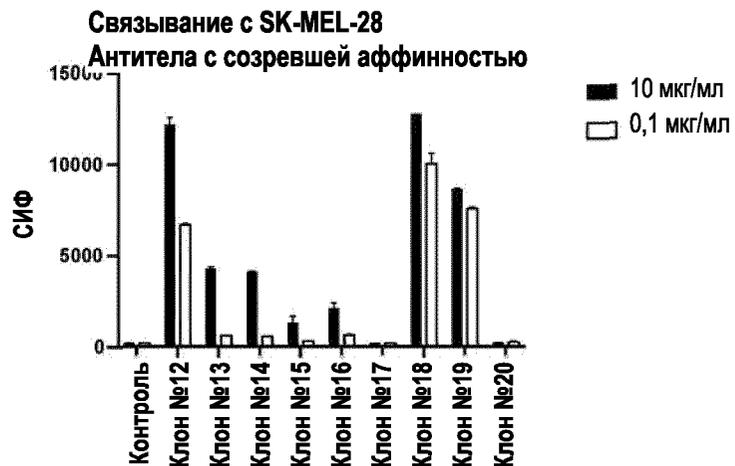
88. Способ по пп. 84-87, отличающийся тем, что инфильтрация клеток врожденного иммунитета больше, чем инфильтрация клеток врожденного иммунитета от введения только антагониста PD-1 или только антитела к PD-1.
89. Способ по пп. 27-46, отличающийся тем, что способ приводит к инфильтрации клеток врожденного иммунитета в опухолевое микроокружение.
90. Способ по п. 89, отличающийся тем, что клетки врожденного иммунитета представляют собой миелоидные клетки.
91. Способ по п. 89, отличающийся тем, что клетки врожденного иммунитета представляют собой макрофаги.
92. Способ по п. 89, отличающийся тем, что клетки врожденного иммунитета представляют собой НК-клетки.



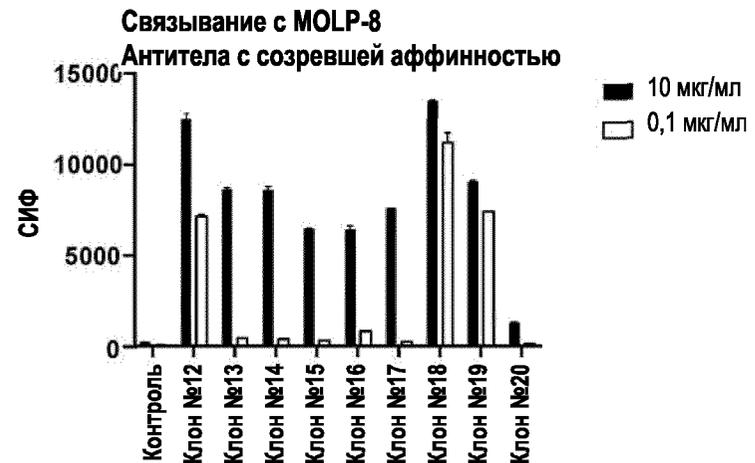
Фиг. 1А



Фиг. 1С

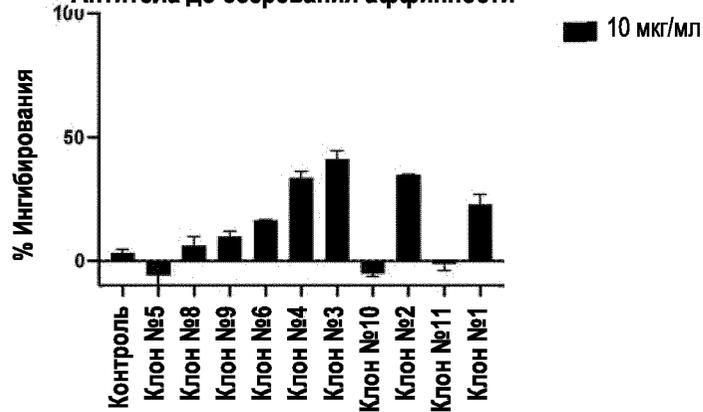


Фиг. 1В



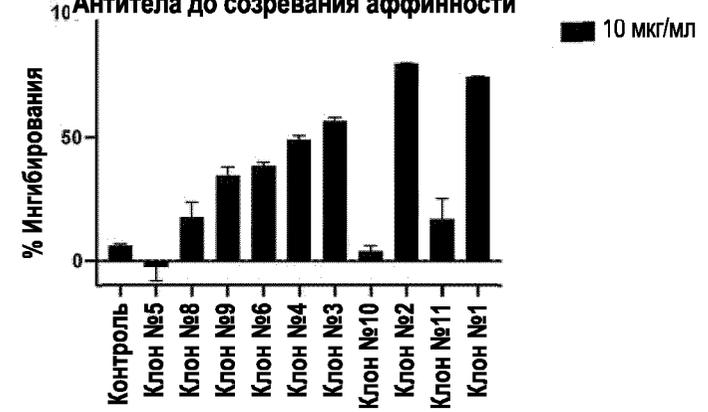
Фиг. 1D

**Ингибирование CD39 на основе клеток SK-MEL-28
Антитела до созревания аффинности**



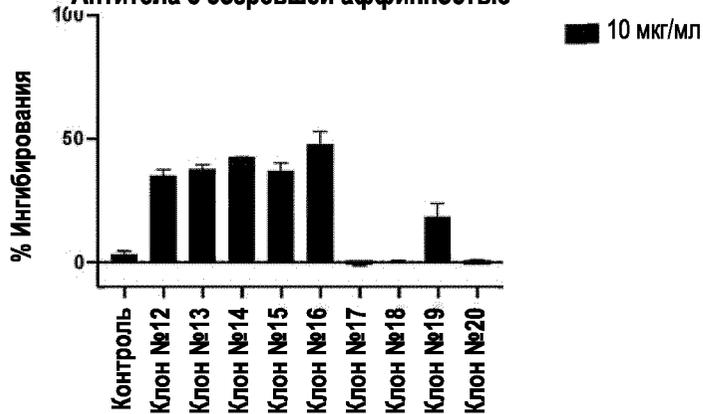
Фиг. 2А

**Ингибирование CD39 на основе клеток MOLP-8
Антитела до созревания аффинности**



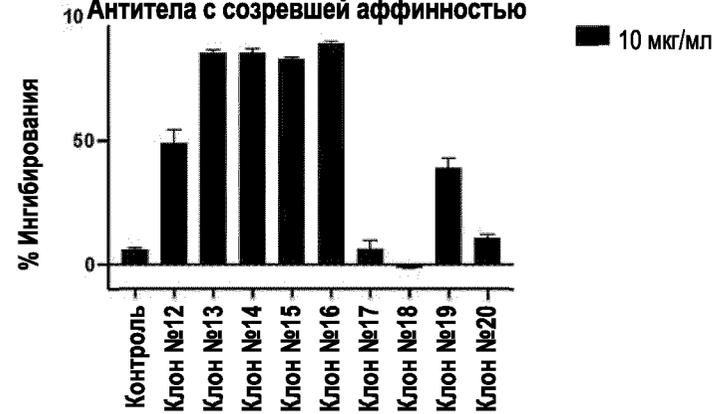
Фиг. 2С

**Ингибирование CD39 на основе клеток SK-MEL-28
Антитела с созревшей аффинностью**



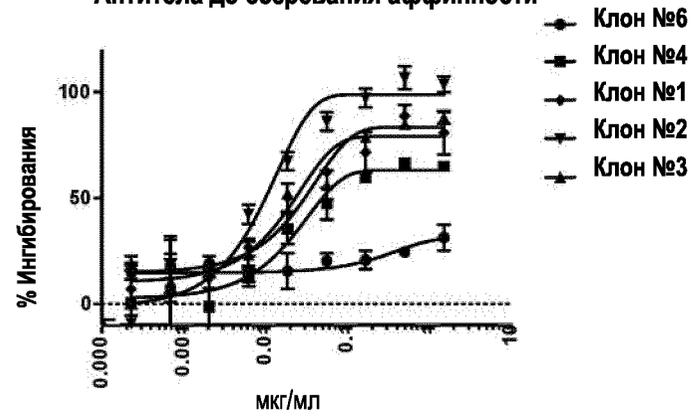
Фиг. 2В

**Ингибирование CD39 на основе клеток MOLP-8
Антитела с созревшей аффинностью**



Фиг. 2D

**Ингибирование CD39 на основе клеток MOLP-8
Антитела до созревания аффинности**



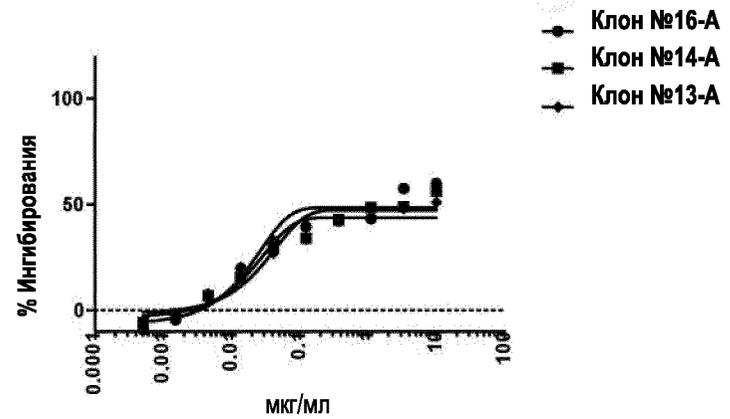
Фиг. 3А

**Ингибирование CD39 на основе клеток MOLP-8
Антитела с созревшей аффинностью**



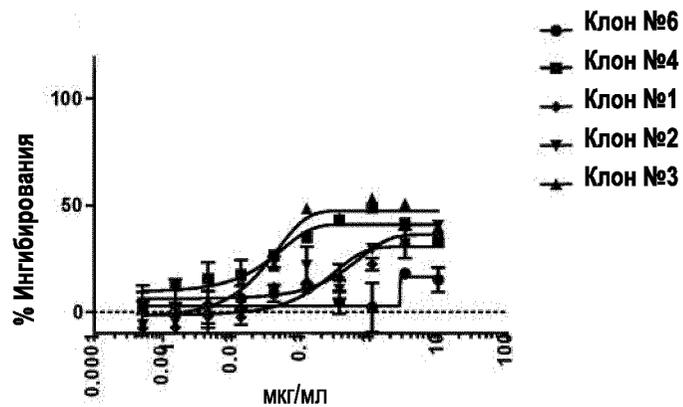
Фиг. 3В

**Ингибирование CD39 на основе клеток SK-MEL-28
Антитела с созревшей аффинностью (IgG4 S228P)**



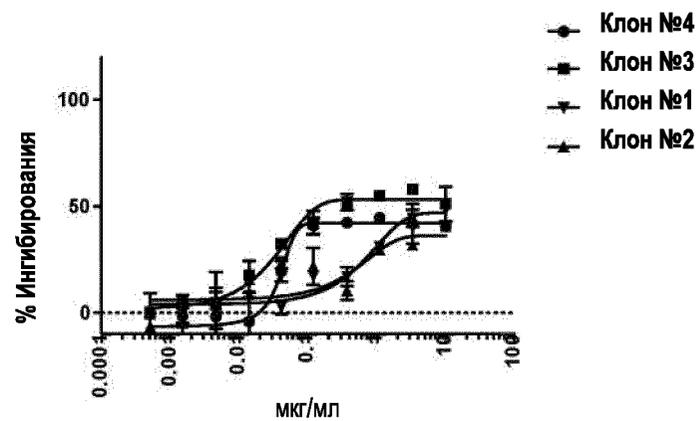
Фиг. 3С

**Ингибирование CD39 на основе моноцитов
Антитела до созревания аффинности**



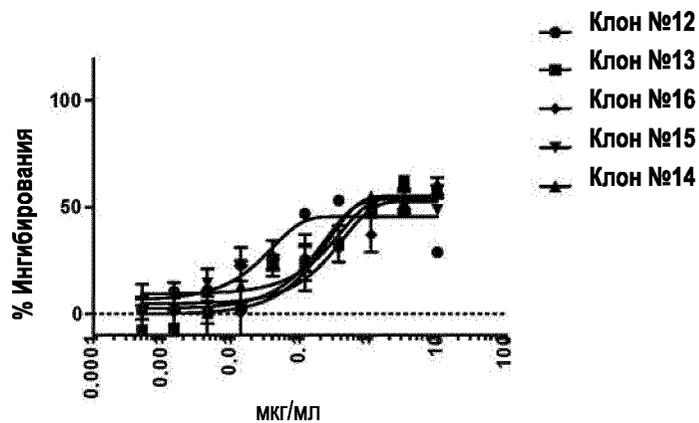
Фиг. 4А

**Ингибирование CD39 на основе В-клеток
Антитела до созревания аффинности**



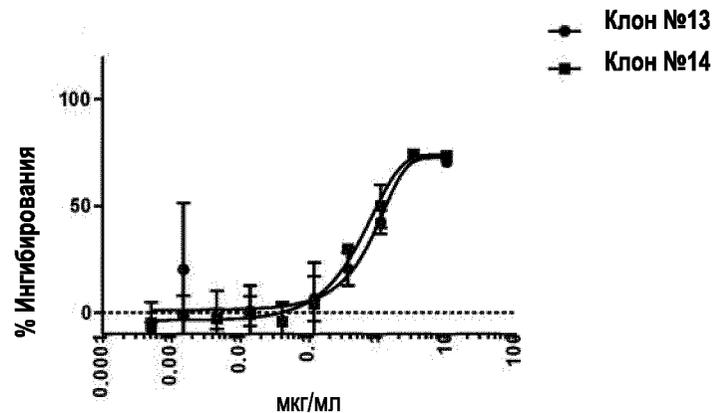
Фиг. 4С

**Ингибирование CD39 на основе моноцитов
Антитела с созревшей аффинностью**



Фиг. 4В

**Ингибирование CD39 на основе В-клеток
Антитела с созревшей аффинностью**



Фиг. 4D

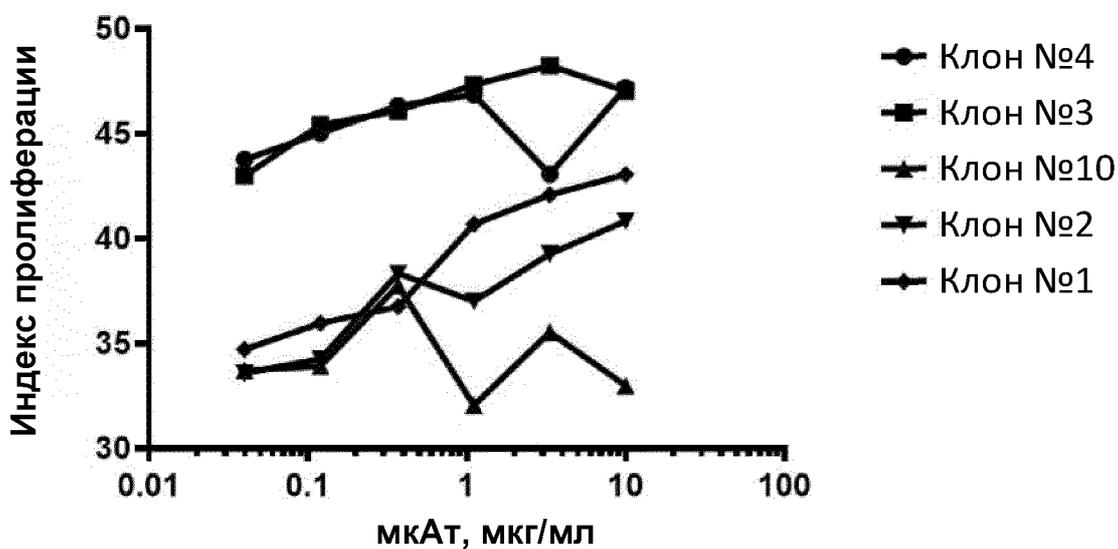
Антитело	IgG, K_D человеческого CD39-His (M), моновалент
Клон №1	8,04E-09
Клон №2	1,16E-08
Клон №3	3,25E-09
Клон №4	3,65E-09
Клон №5	2,96E-08
Клон №6	1,77E-07
Клон №7	9,43E-08
Клон №8	2,83E-08
Клон №9	1,24E-07
Клон №10	3,73E-08
Клон №11	1,47E-08
Клон №12	1,38E-09
Клон №13	1,19E-09
Клон №14	1,25E-09
Клон №15	1,97E-09
Клон №16	3,81E-09
Клон №17	1,14E-09
Клон №18	7,06E-10
Клон №19	2,83E-08
Клон №20	3,89E-09

Фиг. 5А

Антитело	Равновесная K_D (M) по MSD для биотинилированного человеческого CD39-His, инкубированного с Fab
Клон №1	2,10E-09
Клон №13	1,70E-10
Клон №14	1,50E-10
Клон №15	3,80E-10
Клон №17	9,90E-11
Клон №18	3,80E-11
Клон №20	6,10E-10

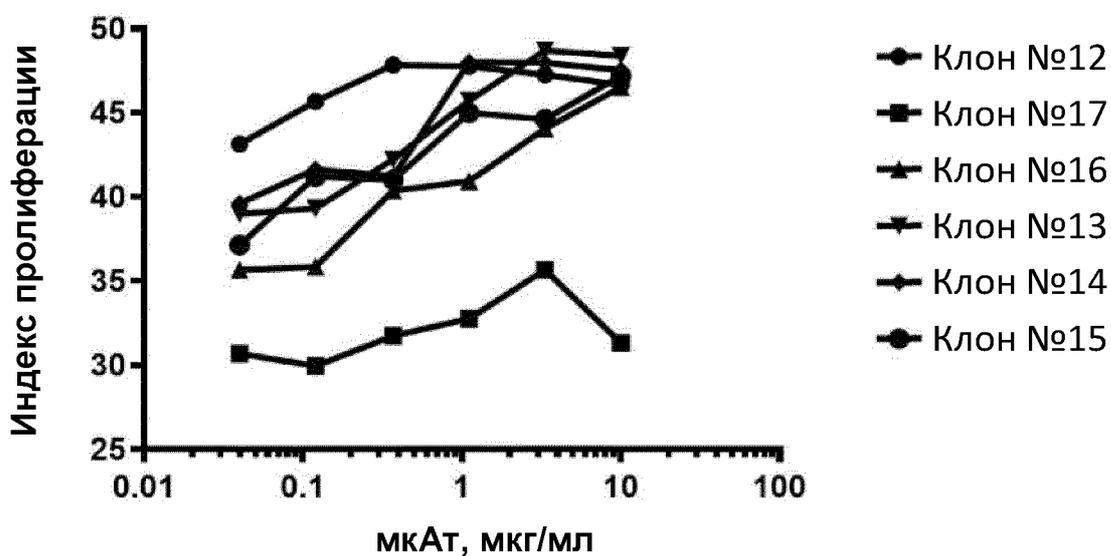
Фиг. 5В

Антитела к CD39 до созревания аффинности

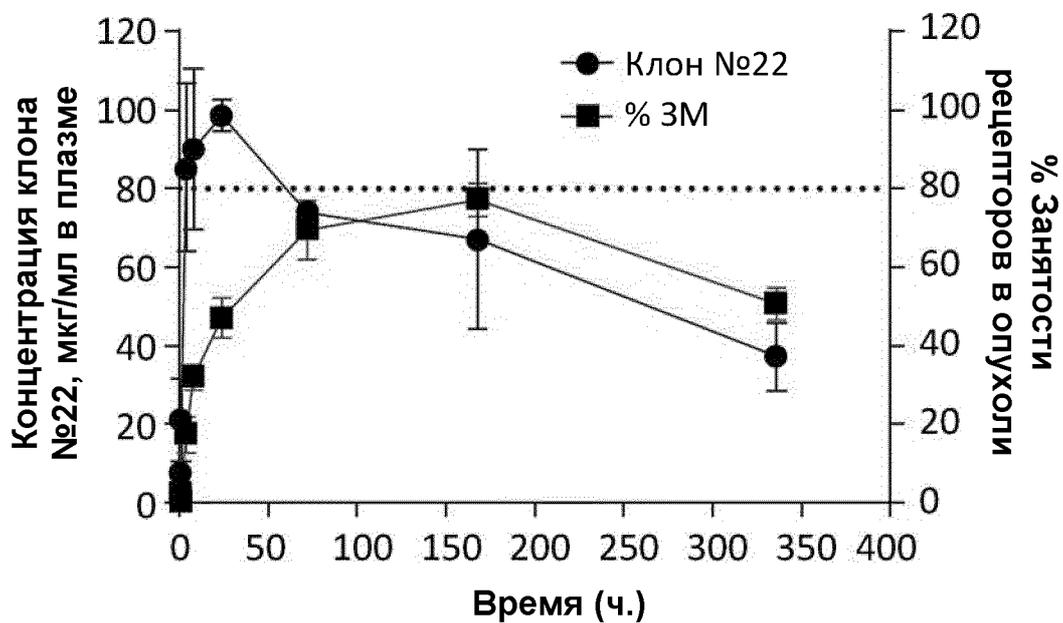


Фиг. 6А

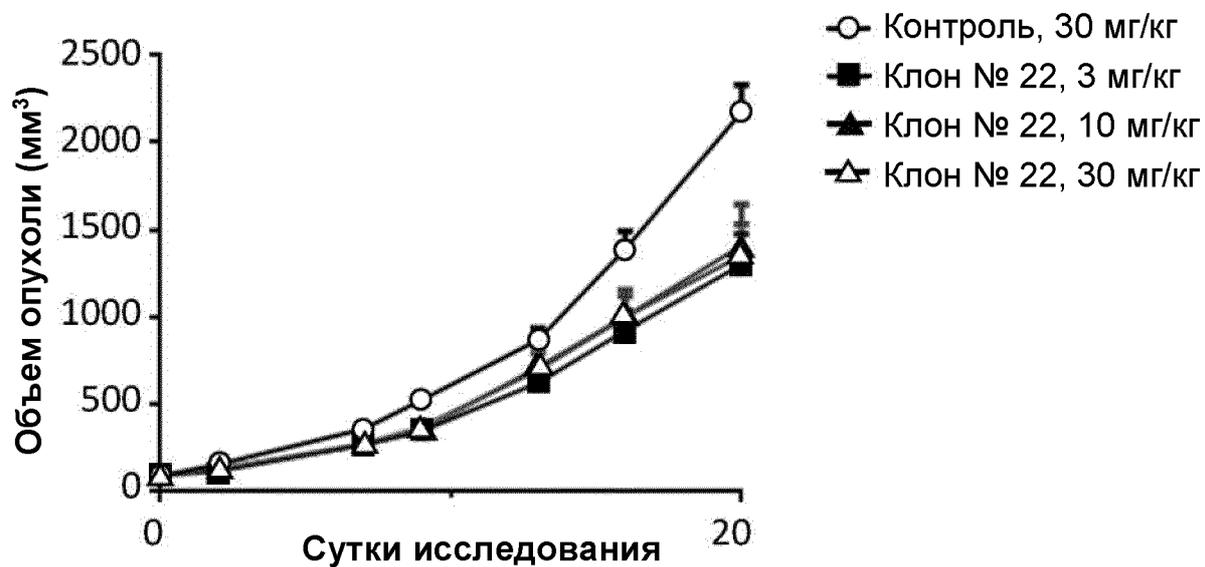
Антитела к CD39 с созревшей аффинности



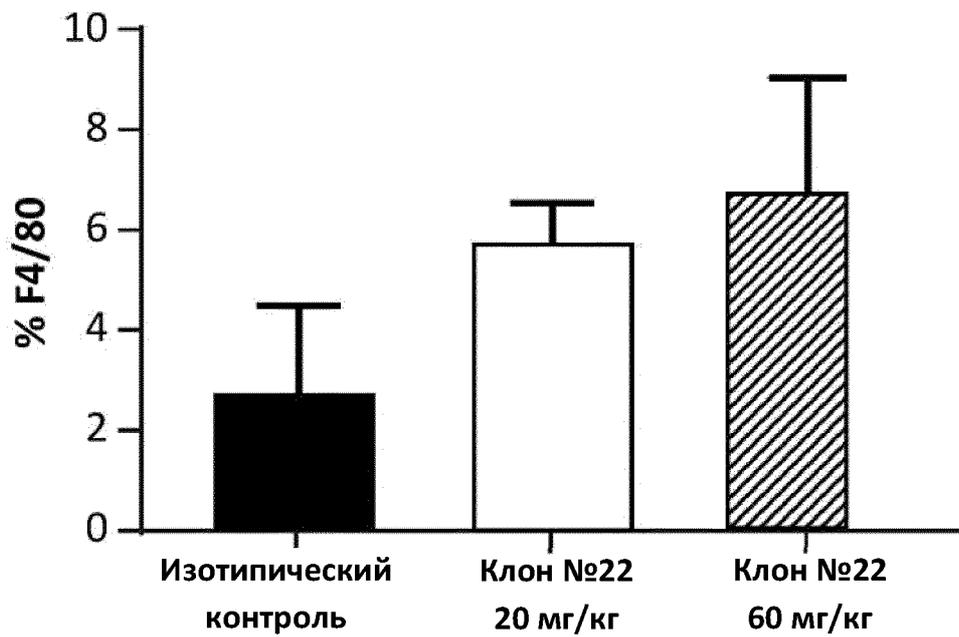
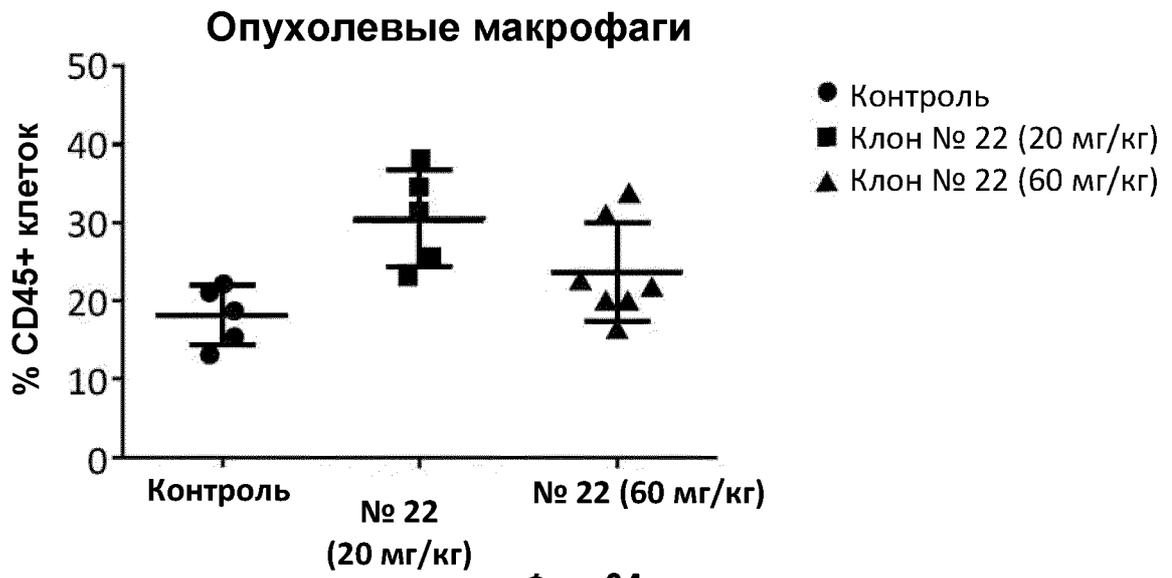
Фиг. 6В



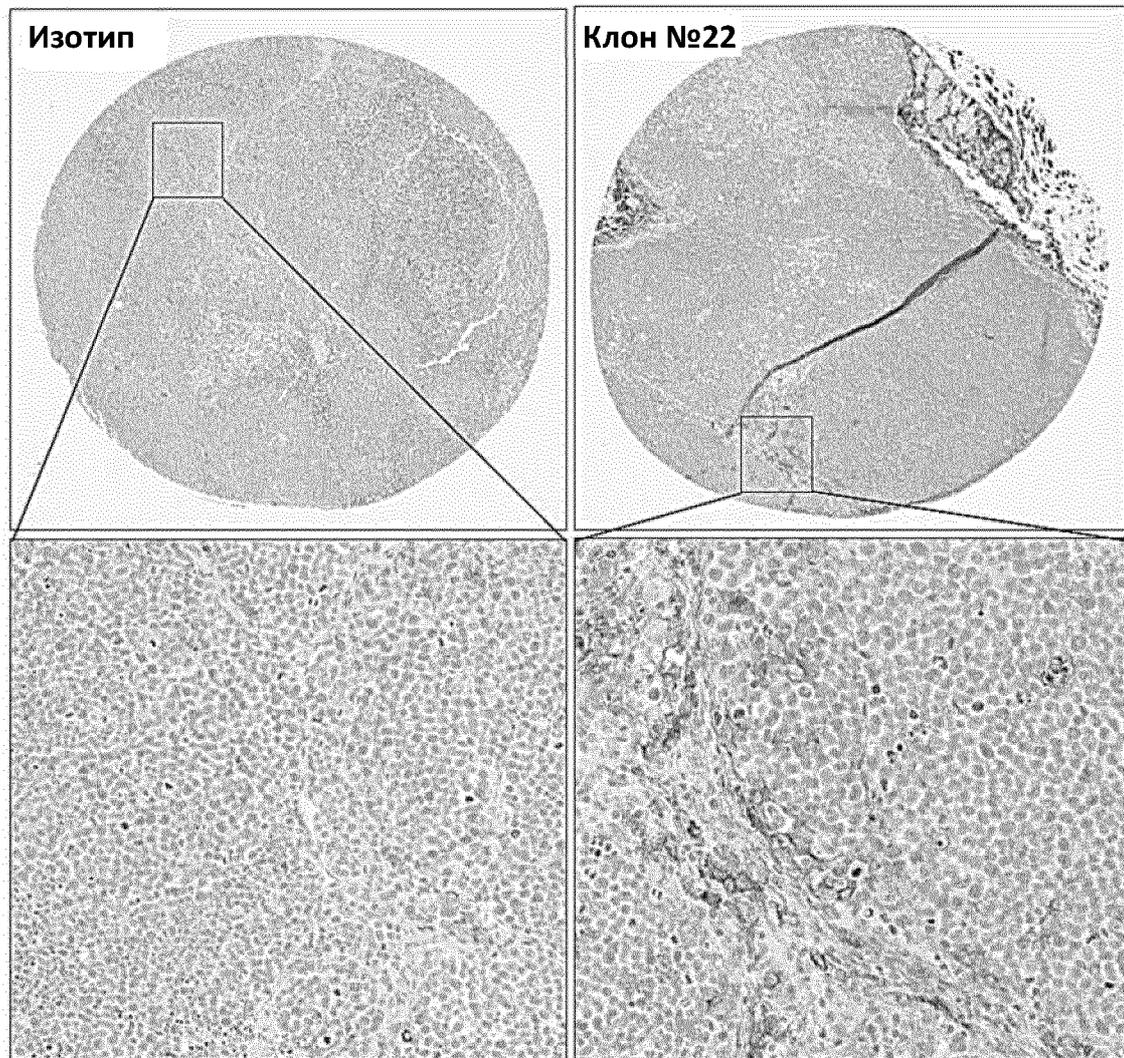
Фиг. 7А



Фиг. 7В

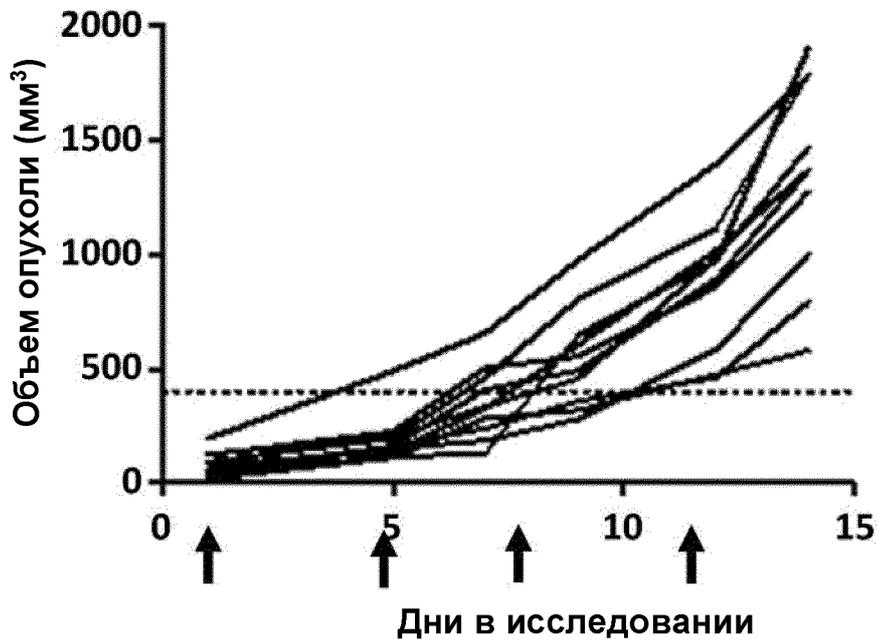


Фиг. 8В

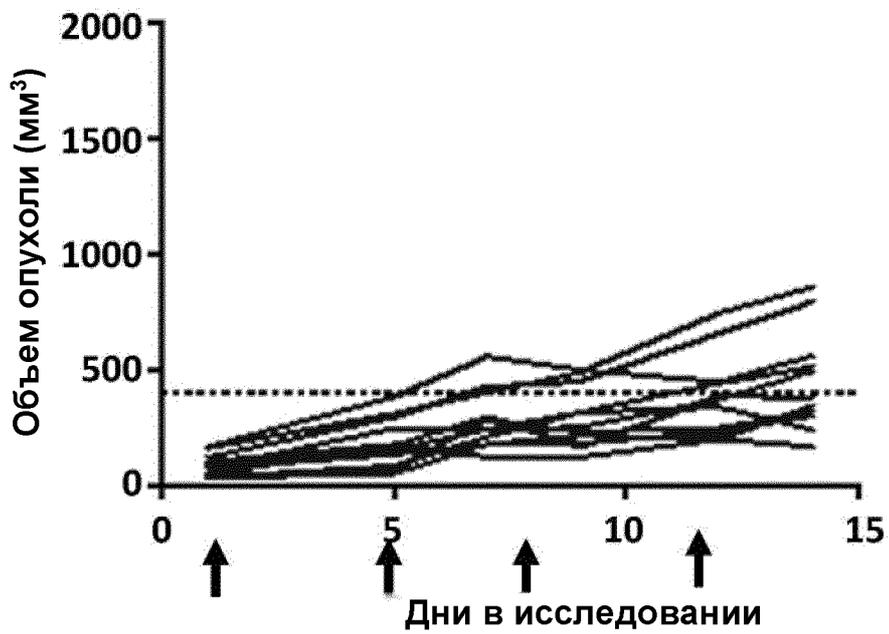


Фиг. 8С

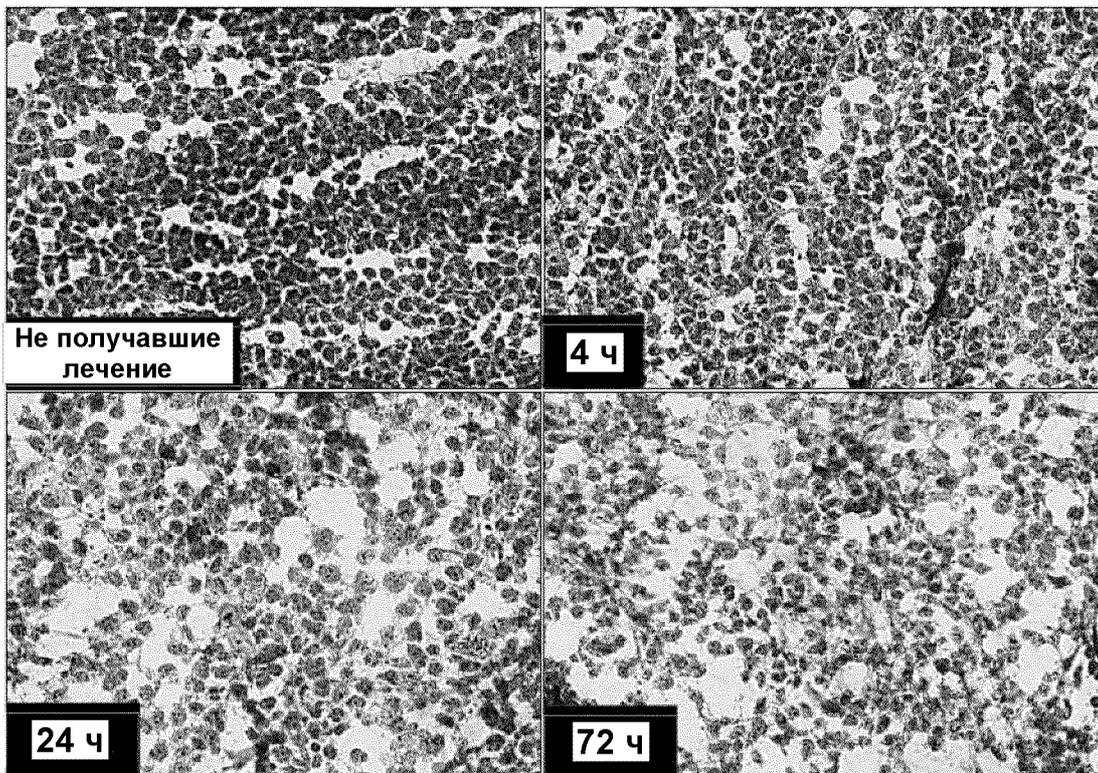
Изотипический контроль



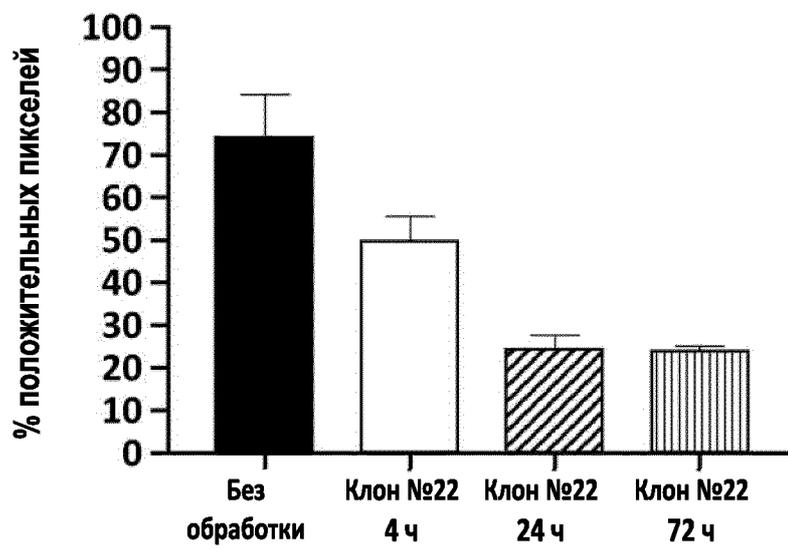
Клон №22



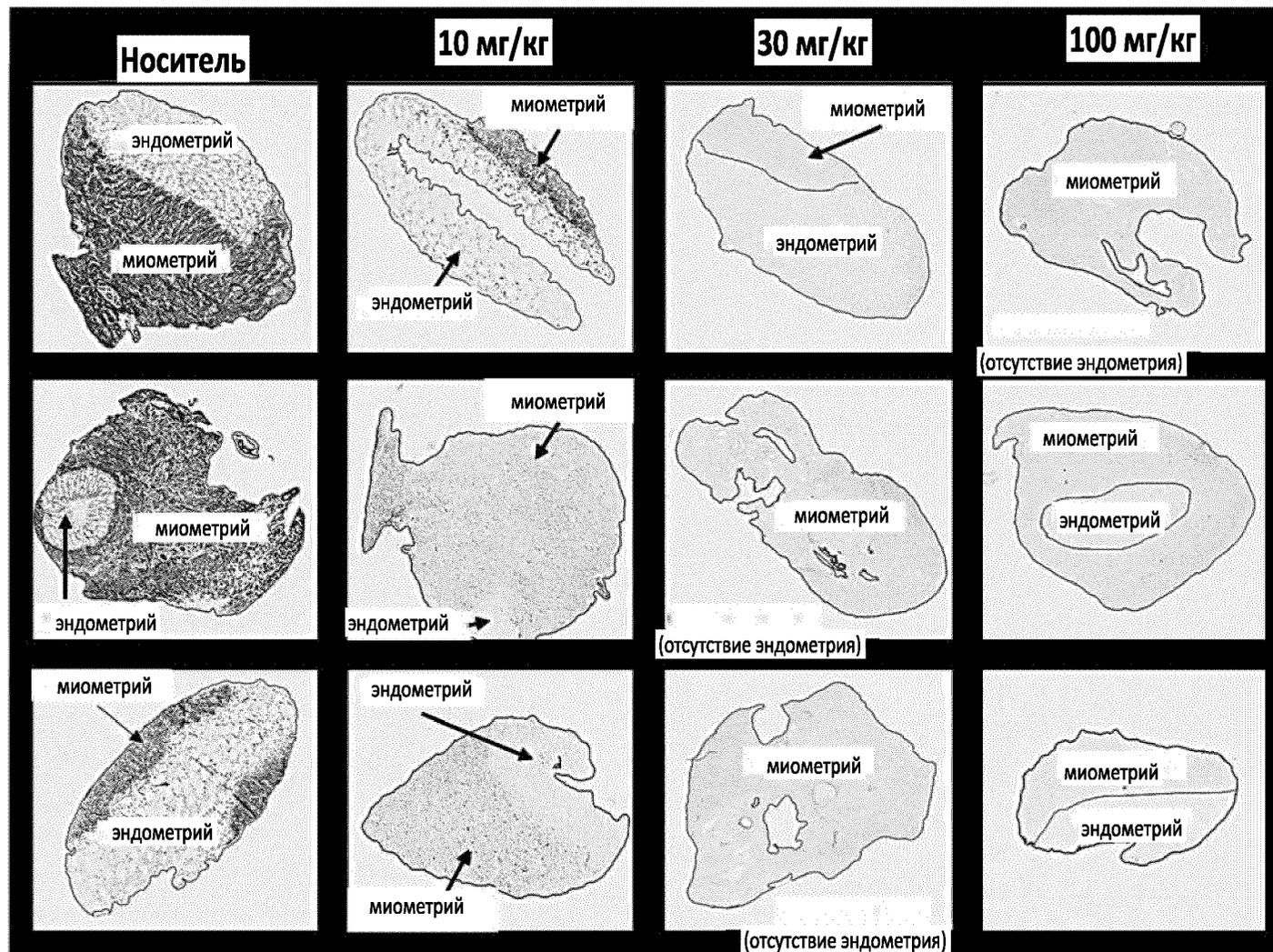
Фиг. 8D



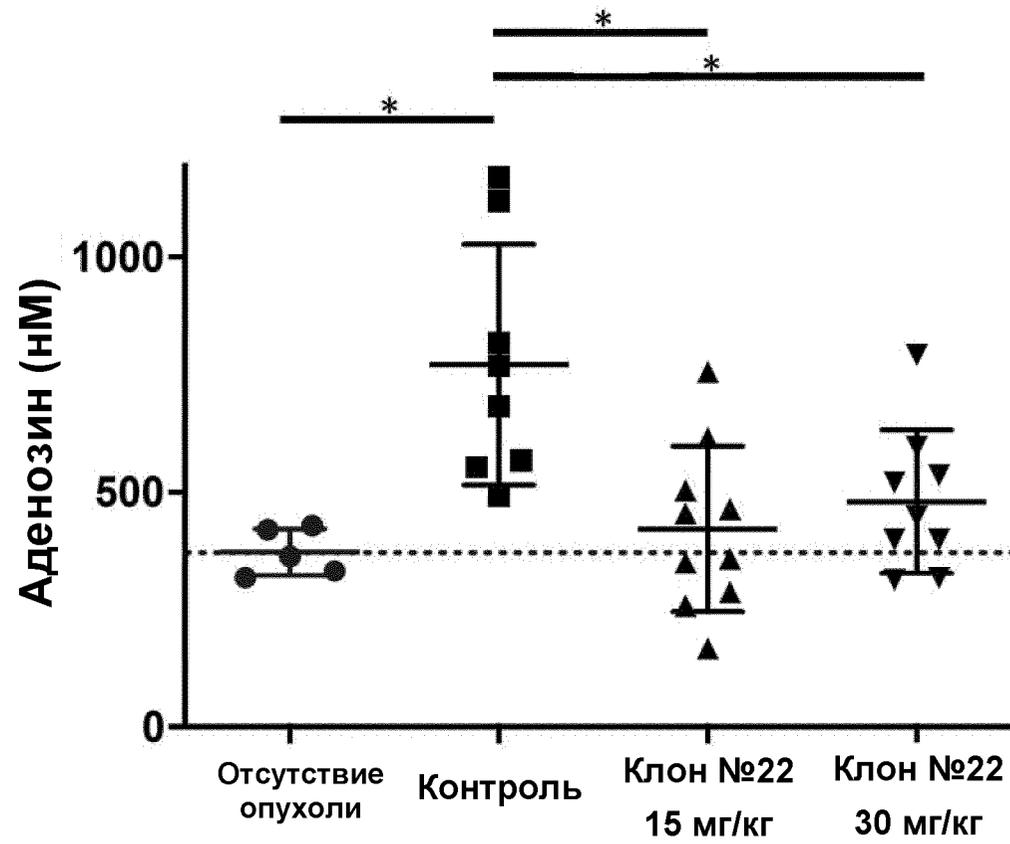
Фиг. 9А



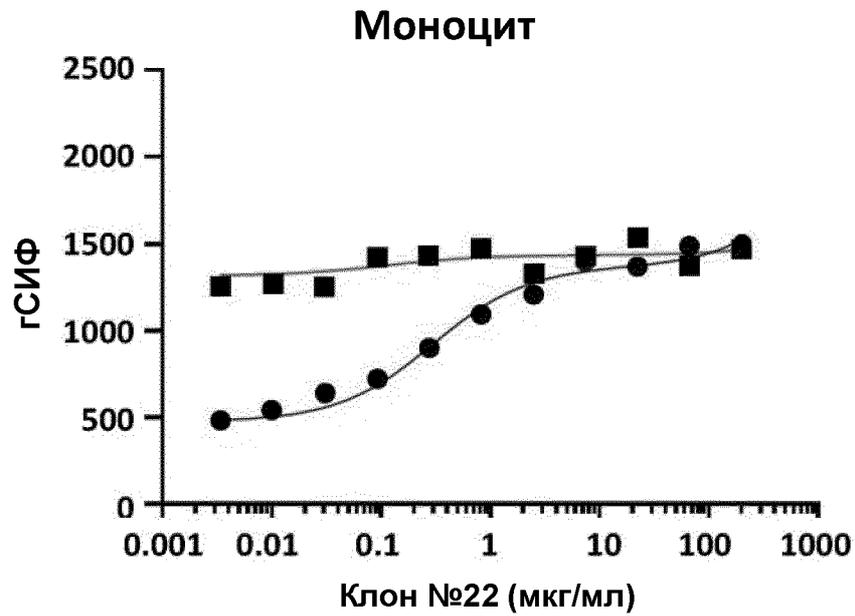
Фиг. 9В



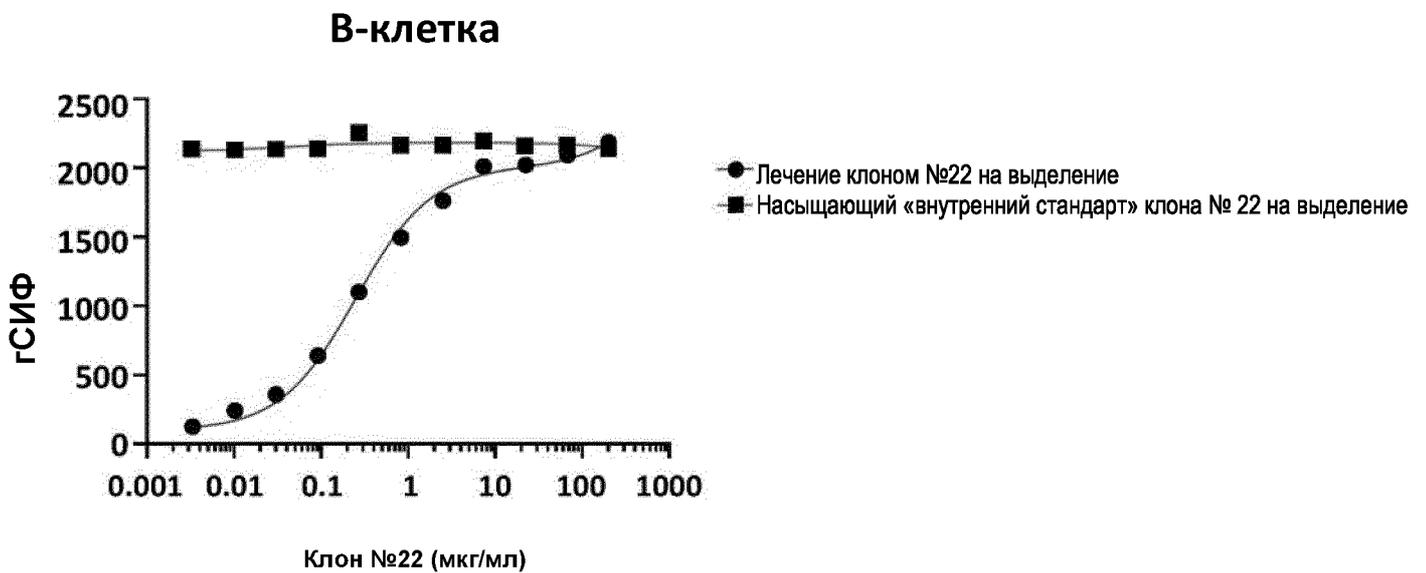
Фиг. 10



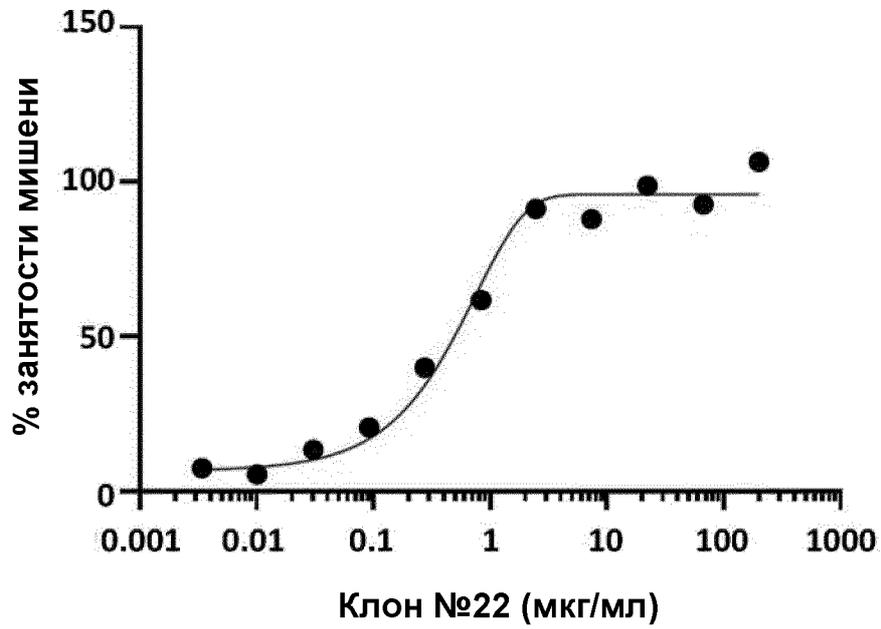
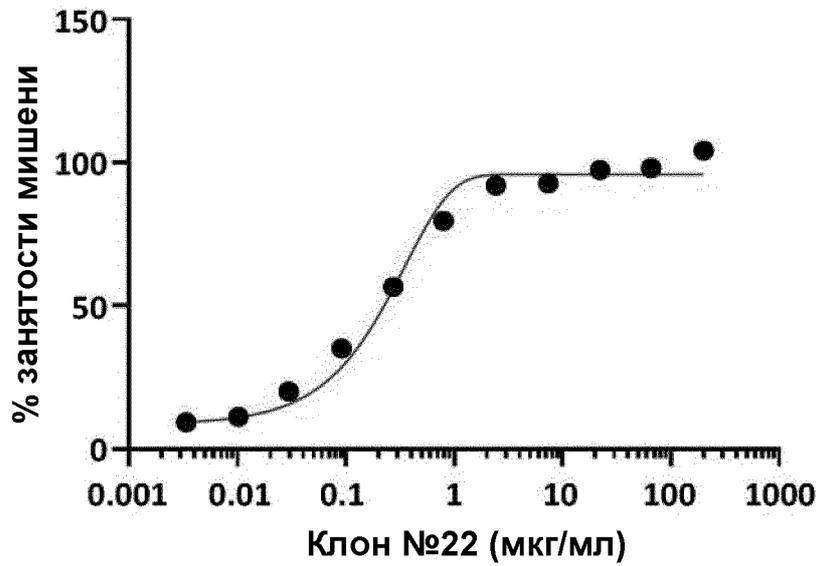
Фиг. 11

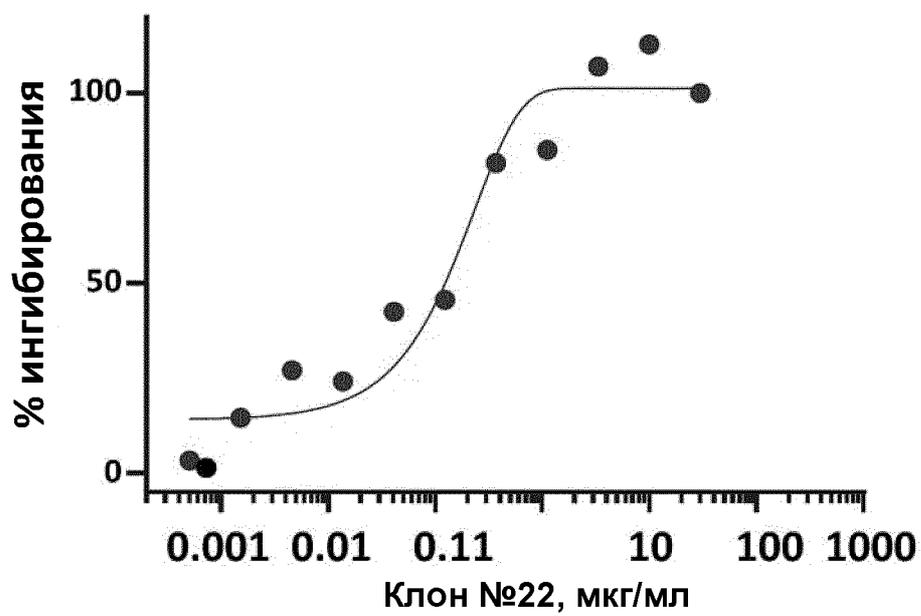


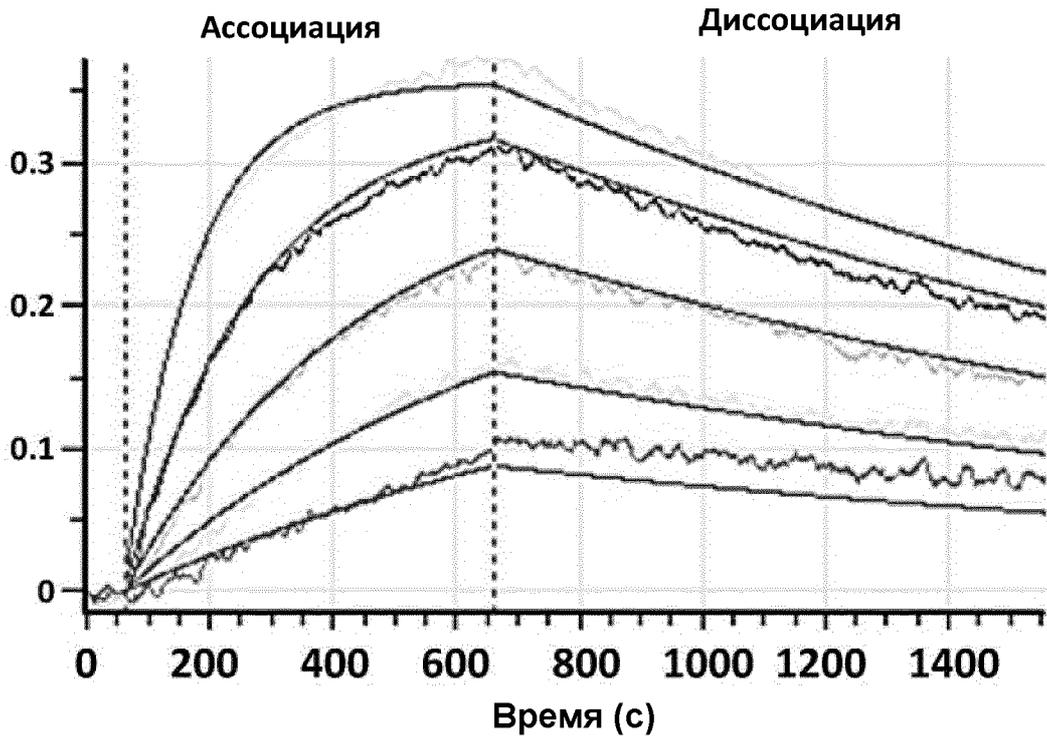
Фиг. 12А



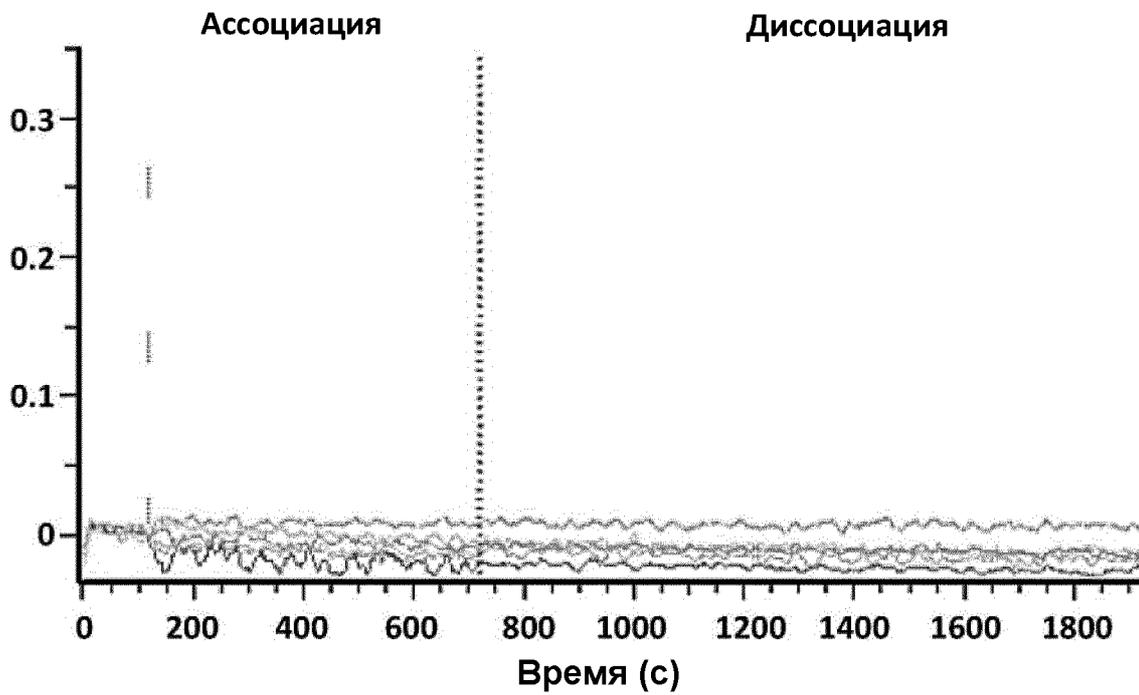
Фиг. 12В

Моноцит*Фиг. 12C***В-клетка***Фиг. 12D*

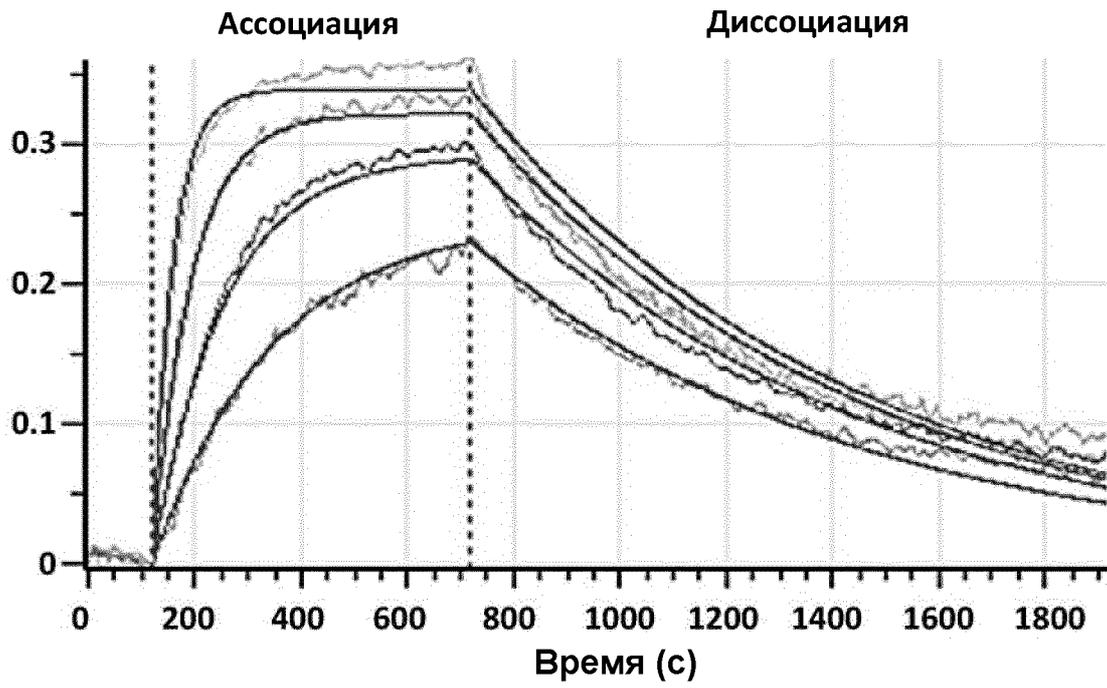
Цельная кровь с лизированными эритроцитами*Фиг. 12E*



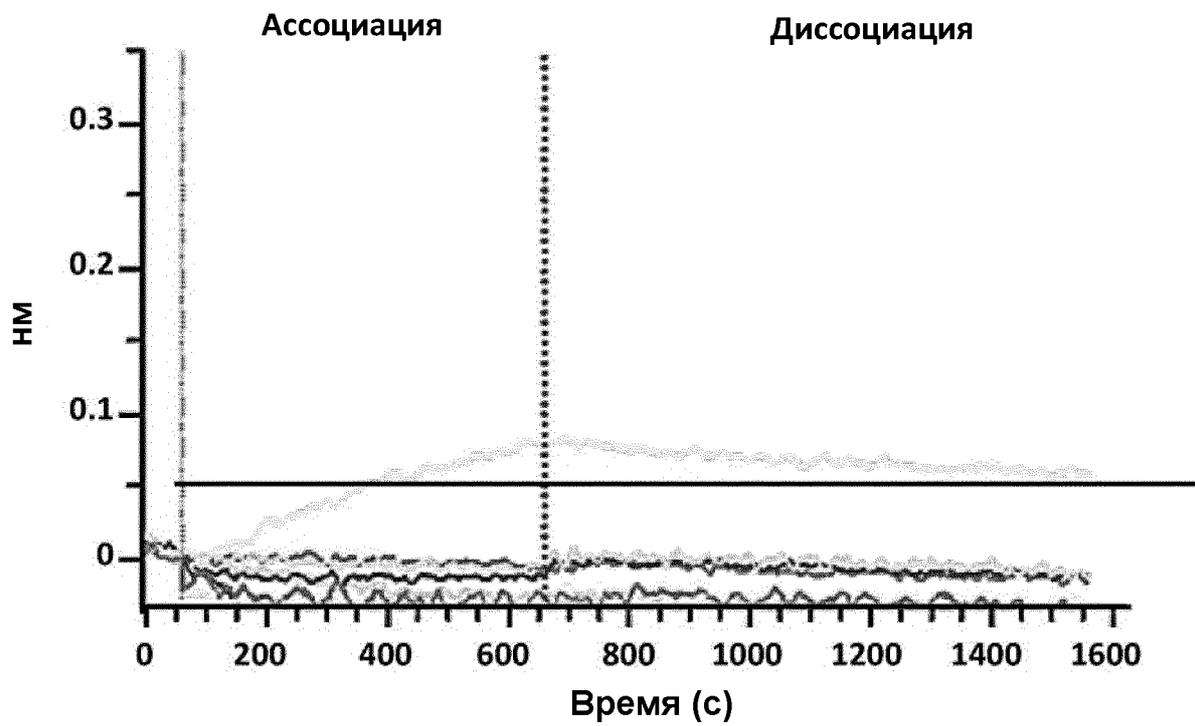
Фиг. 13А



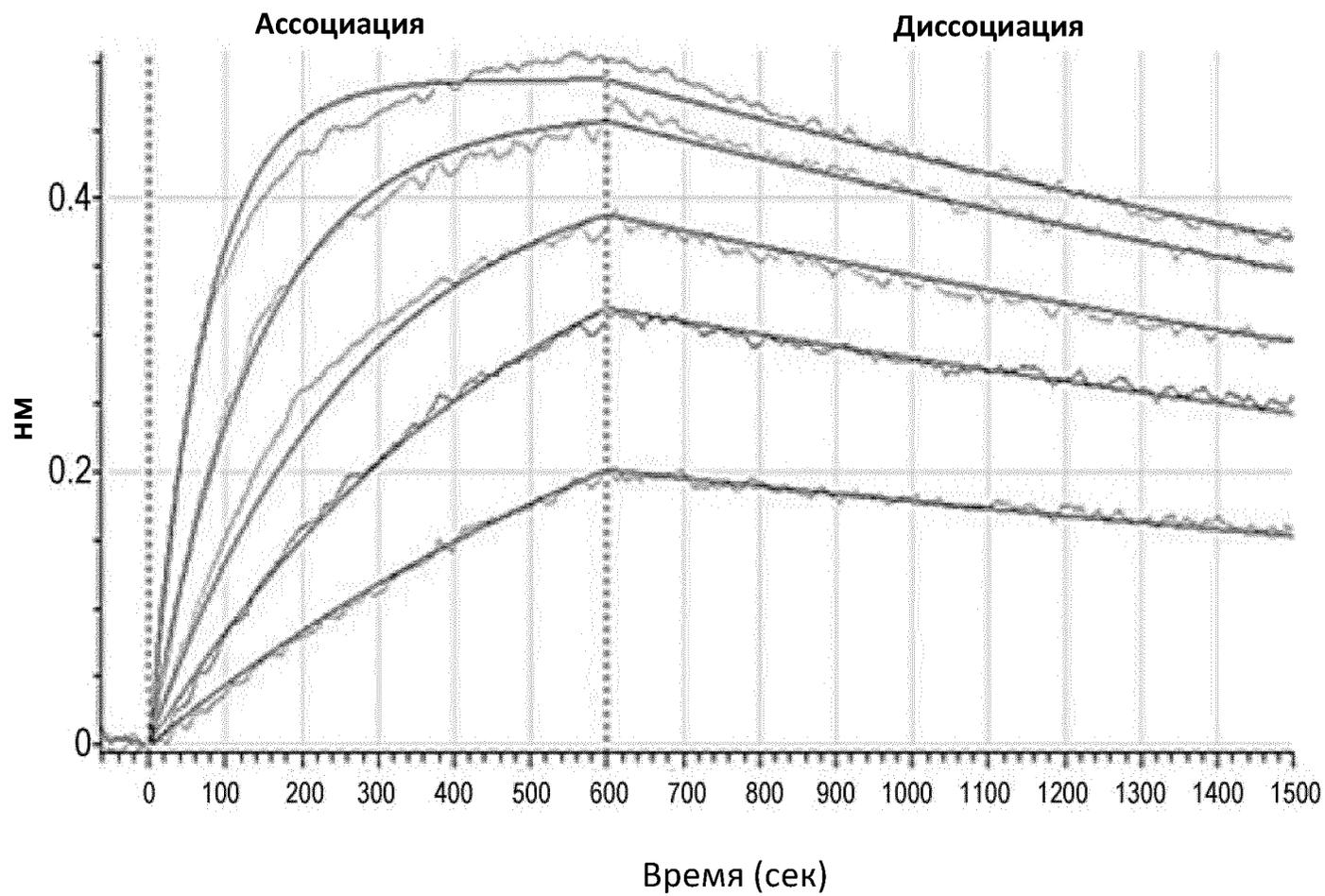
Фиг. 13В



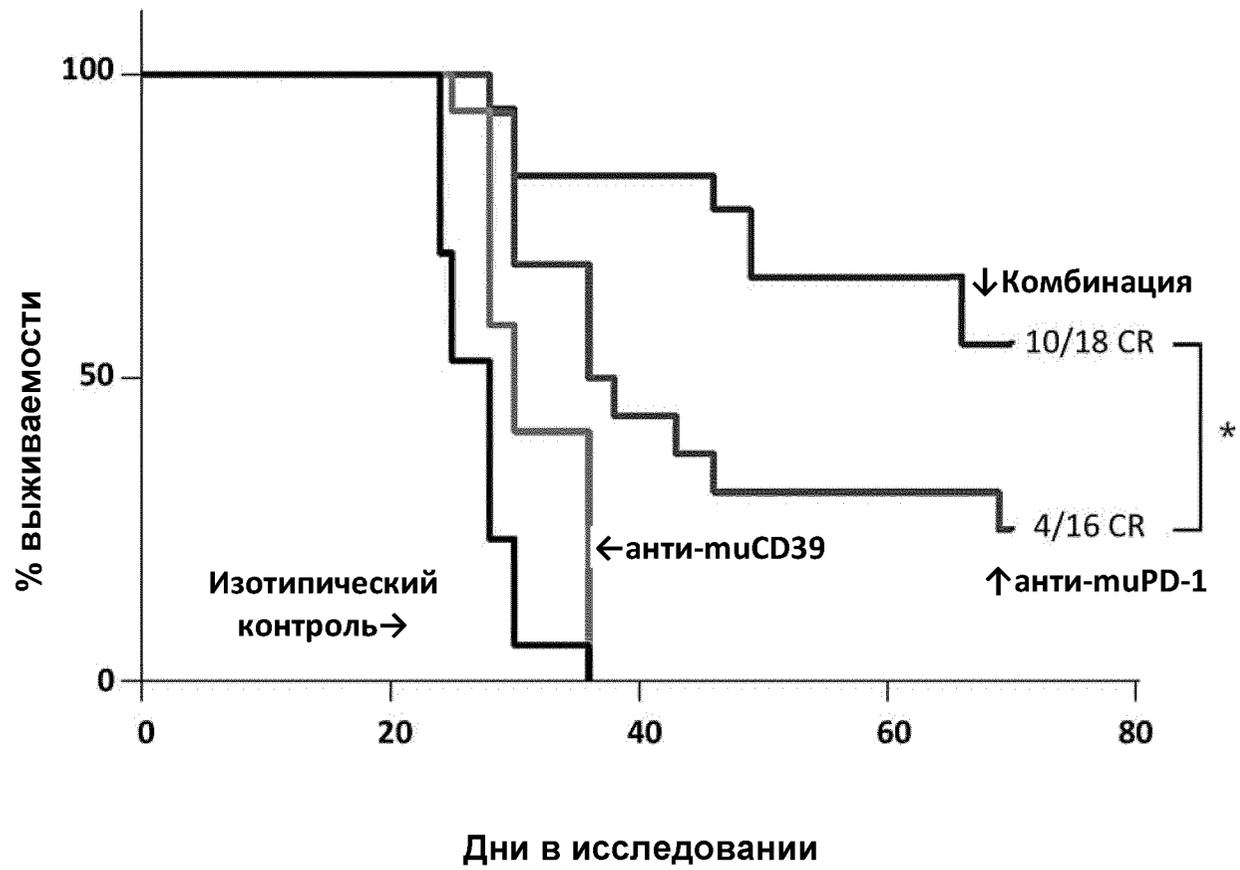
Фиг. 13С



Фиг. 13D

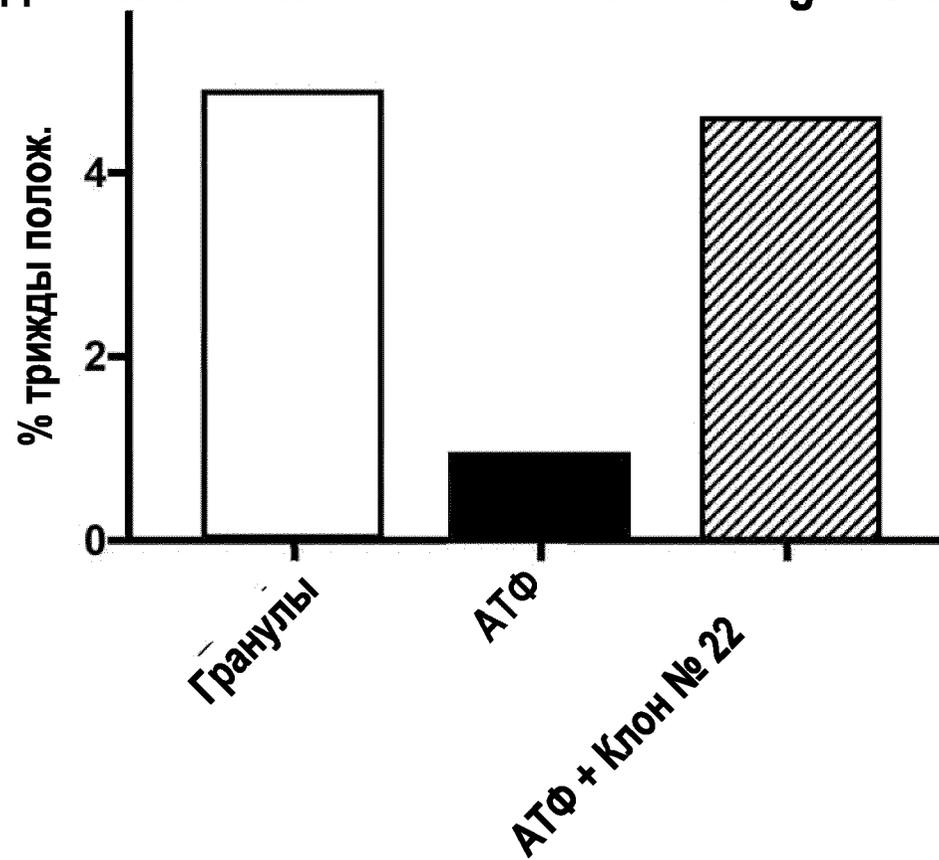


Фиг. 13Е

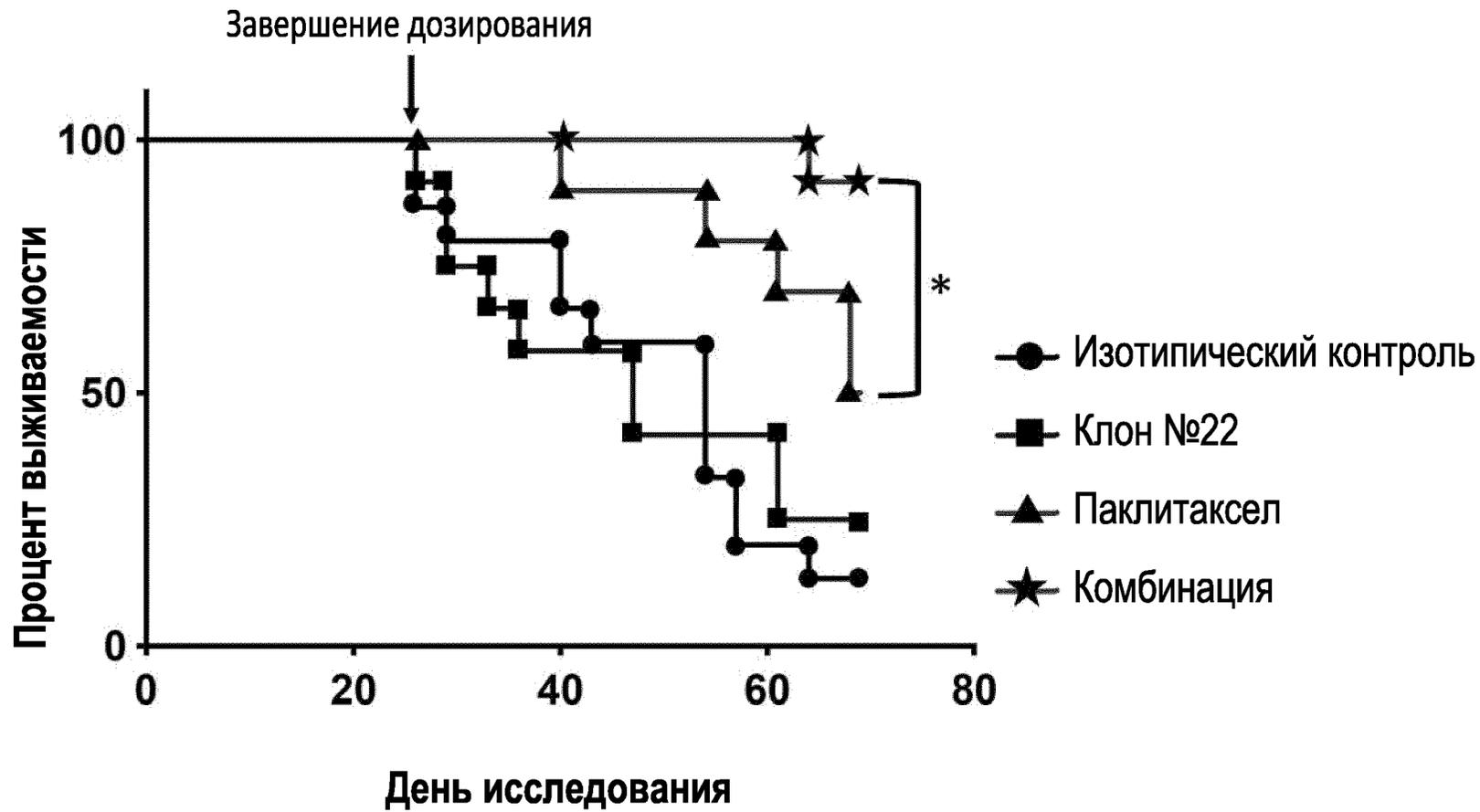


Фиг. 14

% трижды положительных по PD1/TIM3/Lag3 из CD4+CD39+

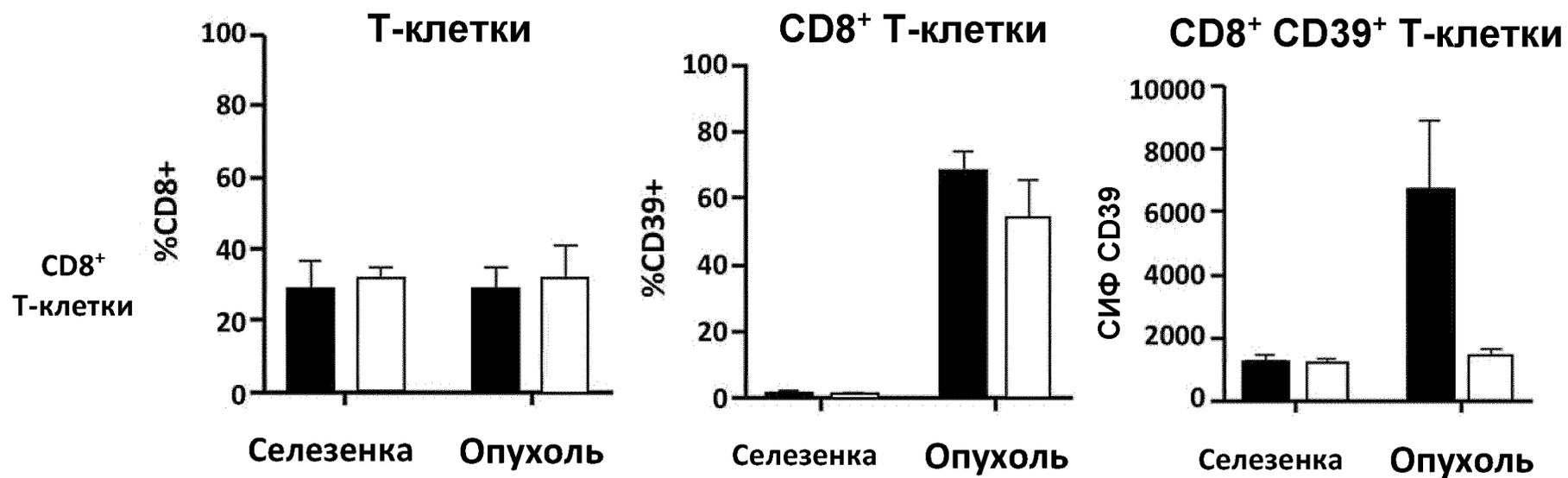


Фиг. 15

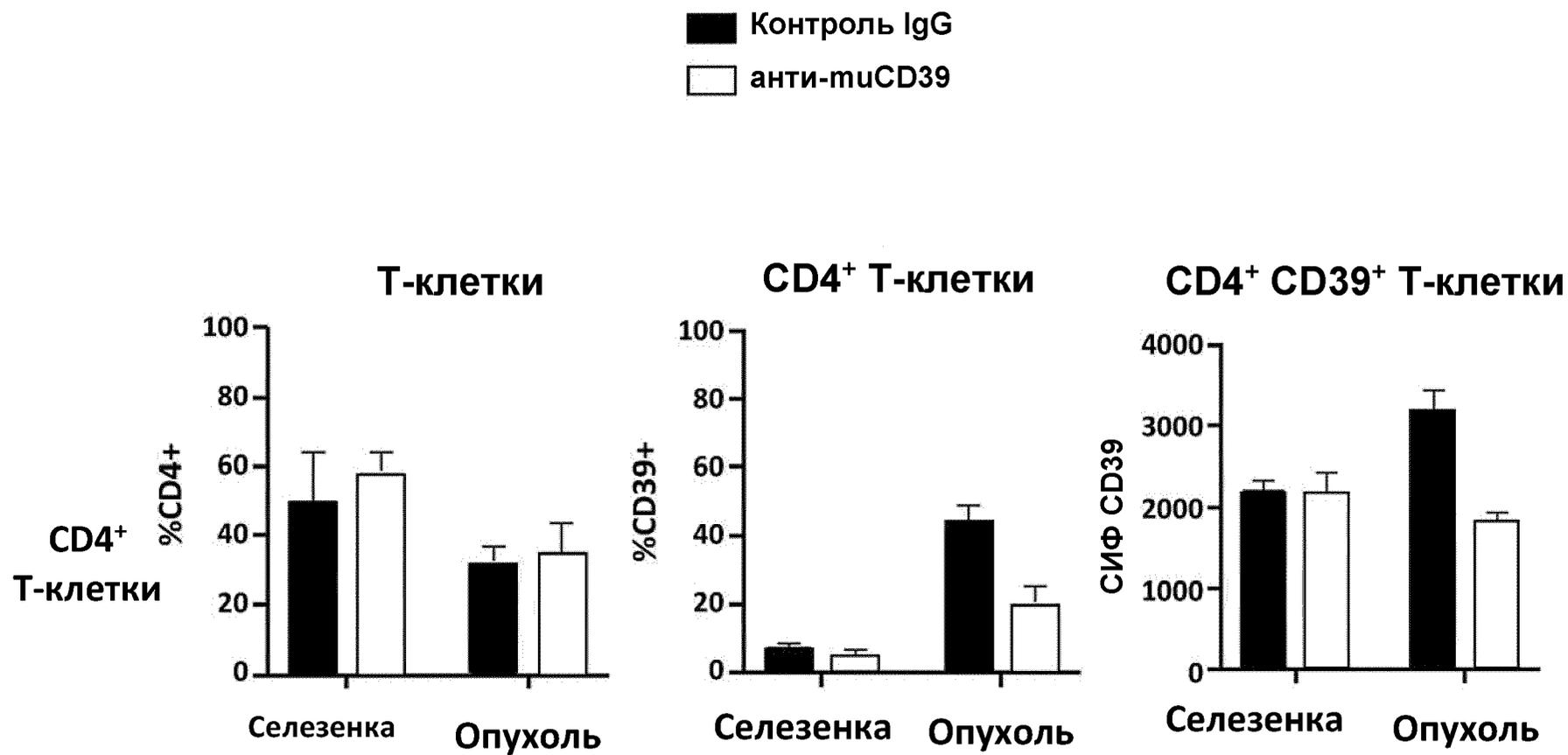


Фиг. 16

■ Контроль IgG
□ анти-муCD39

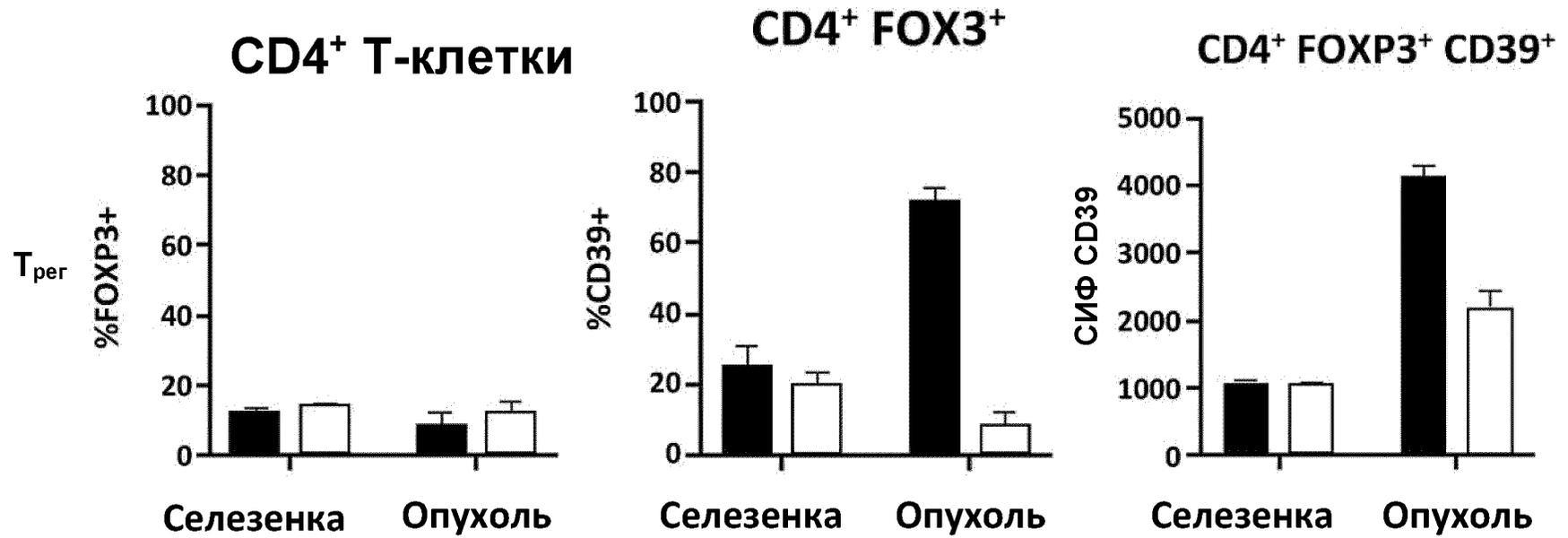


Фиг. 17А



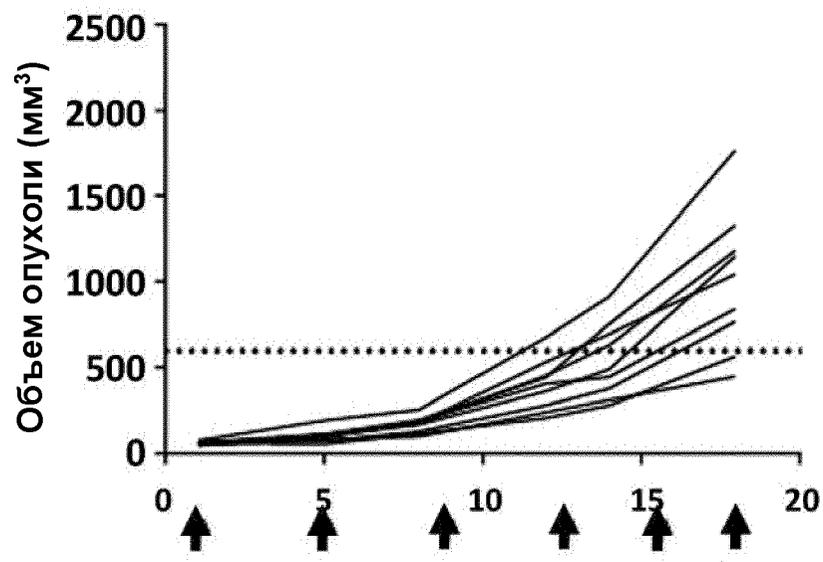
Фиг. 17В

■ Контроль IgG
□ анти- μ CD39



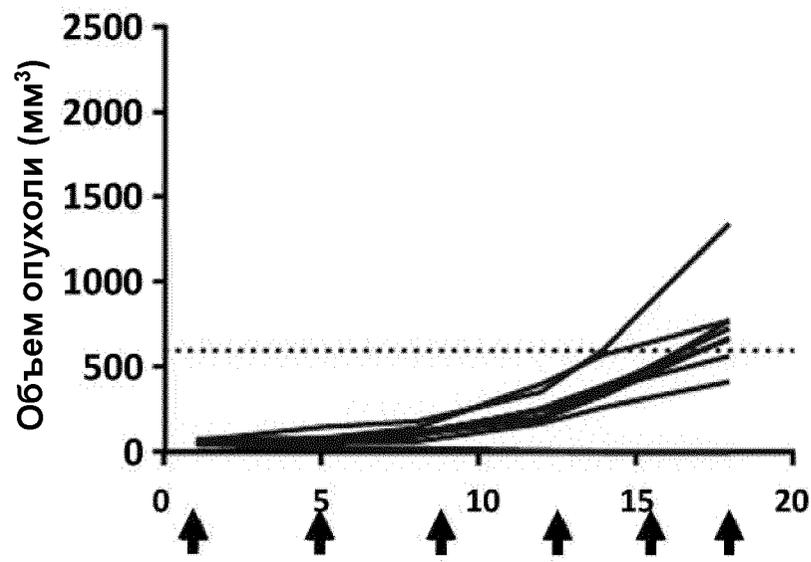
Фиг. 17С

Изотипический контроль



Дни в исследовании

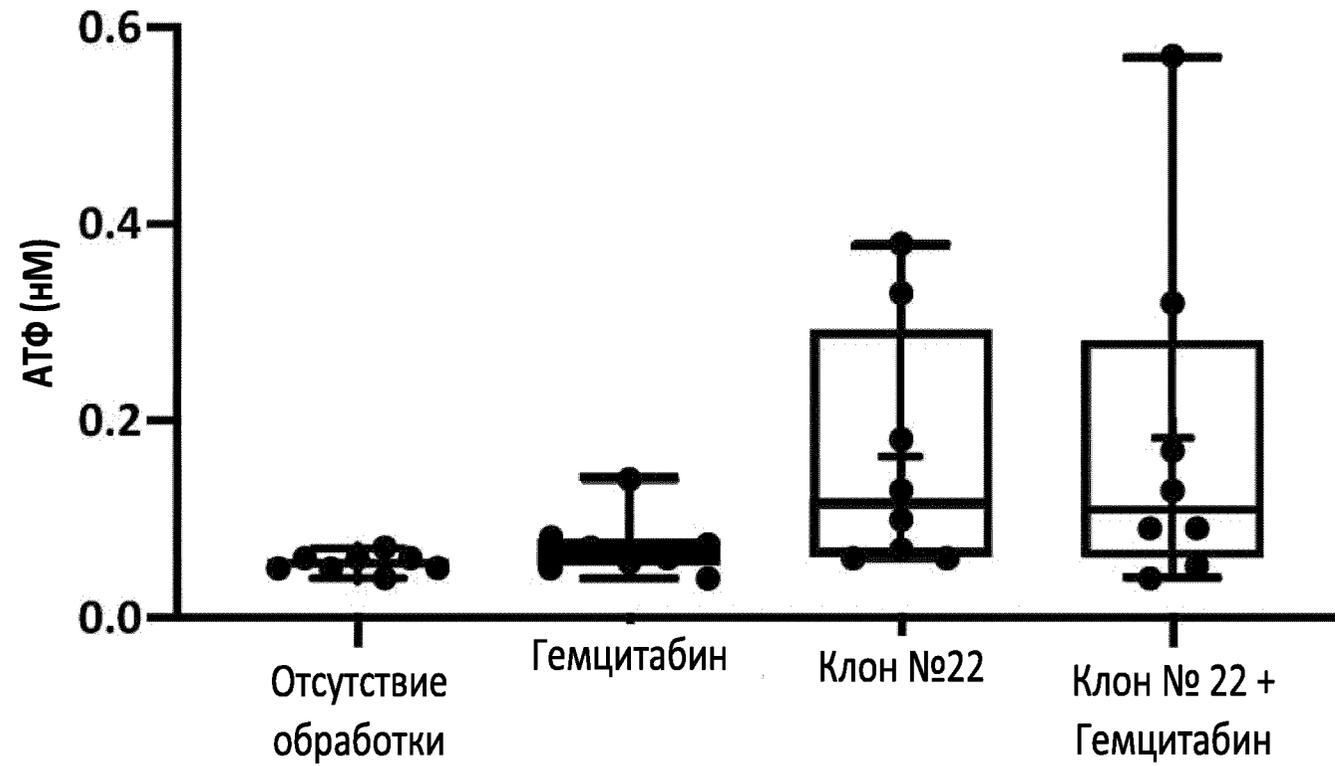
Анти- μ CD39, 20 мг/кг



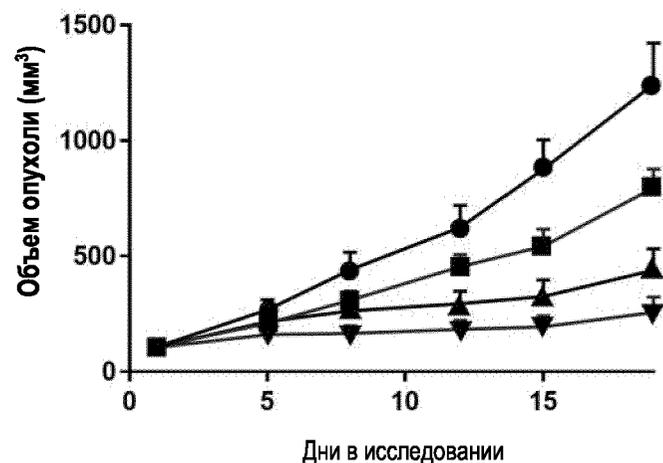
Дни в исследовании

Фиг. 17D

24 ч высвобождение АТФ



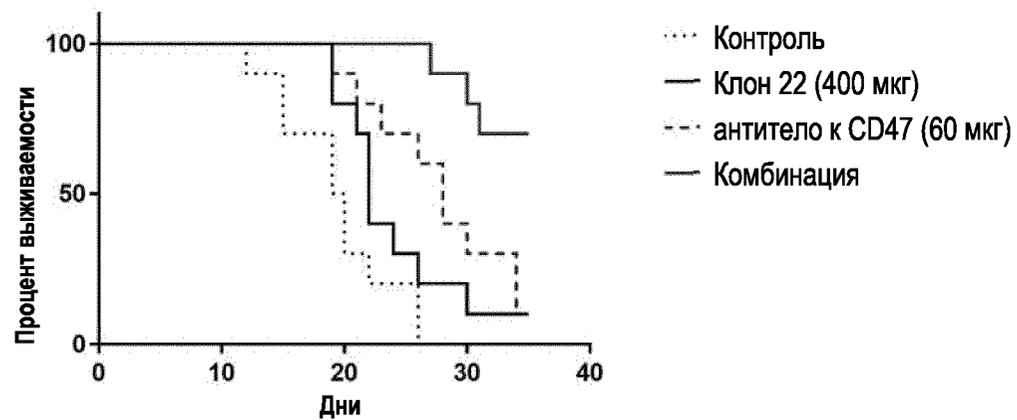
Фиг. 18



- Изотипический контроль
- Клон 22 (400 мкг)
- ▲ антитело к CD47 (60 мкг)
- ▼ Комбинация

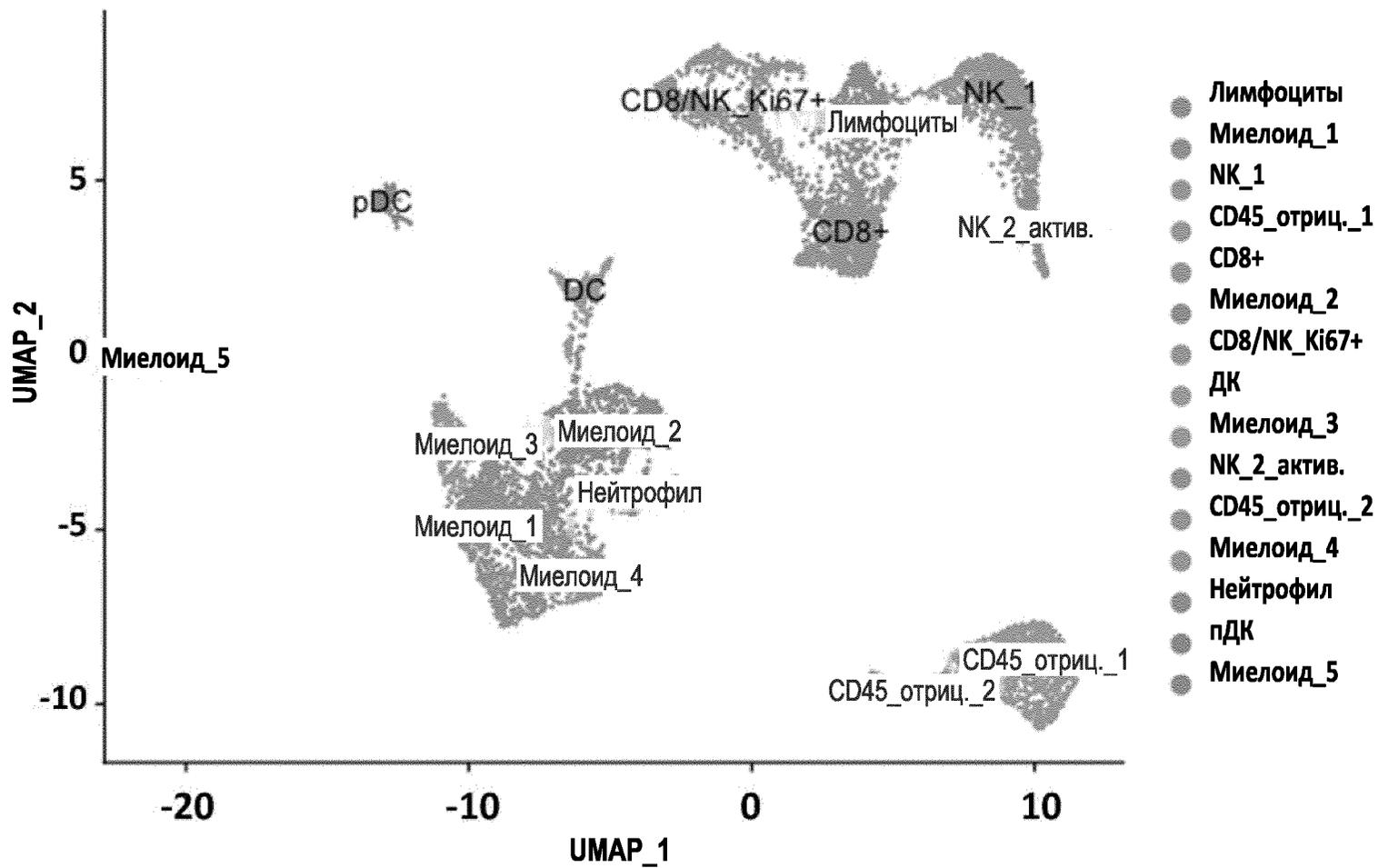
Фиг. 19А

Кривая выживаемости



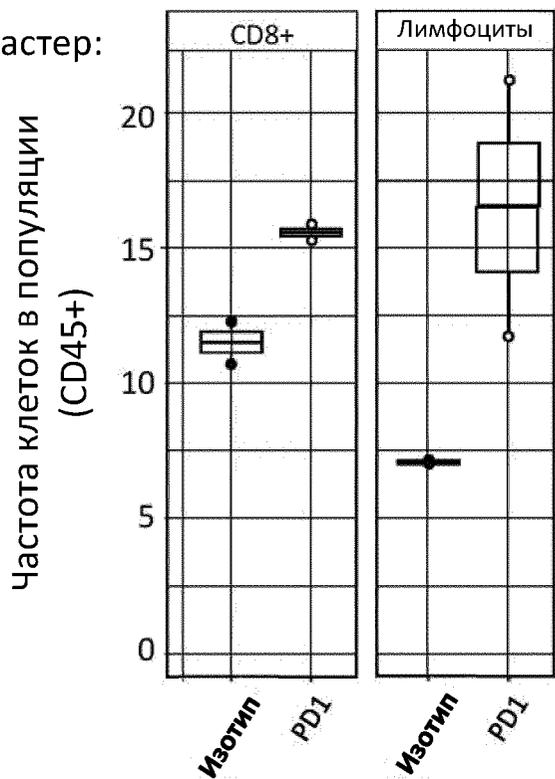
- ⋯ Контроль
- Клон 22 (400 мкг)
- - - антитело к CD47 (60 мкг)
- Комбинация

Фиг. 19В

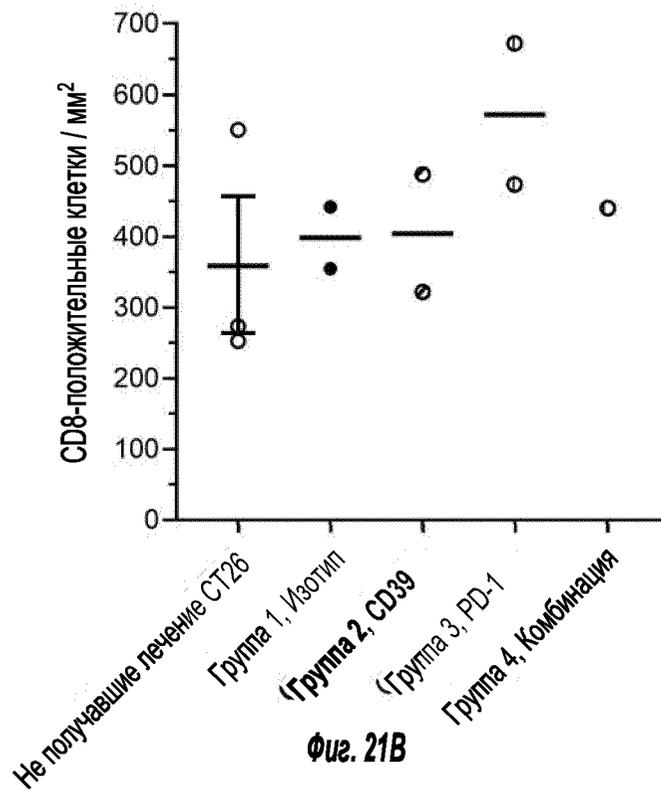


Фиг. 20

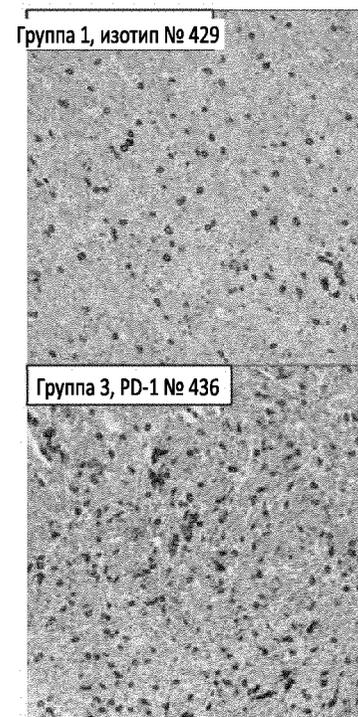
Кластер:



Фиг. 21A

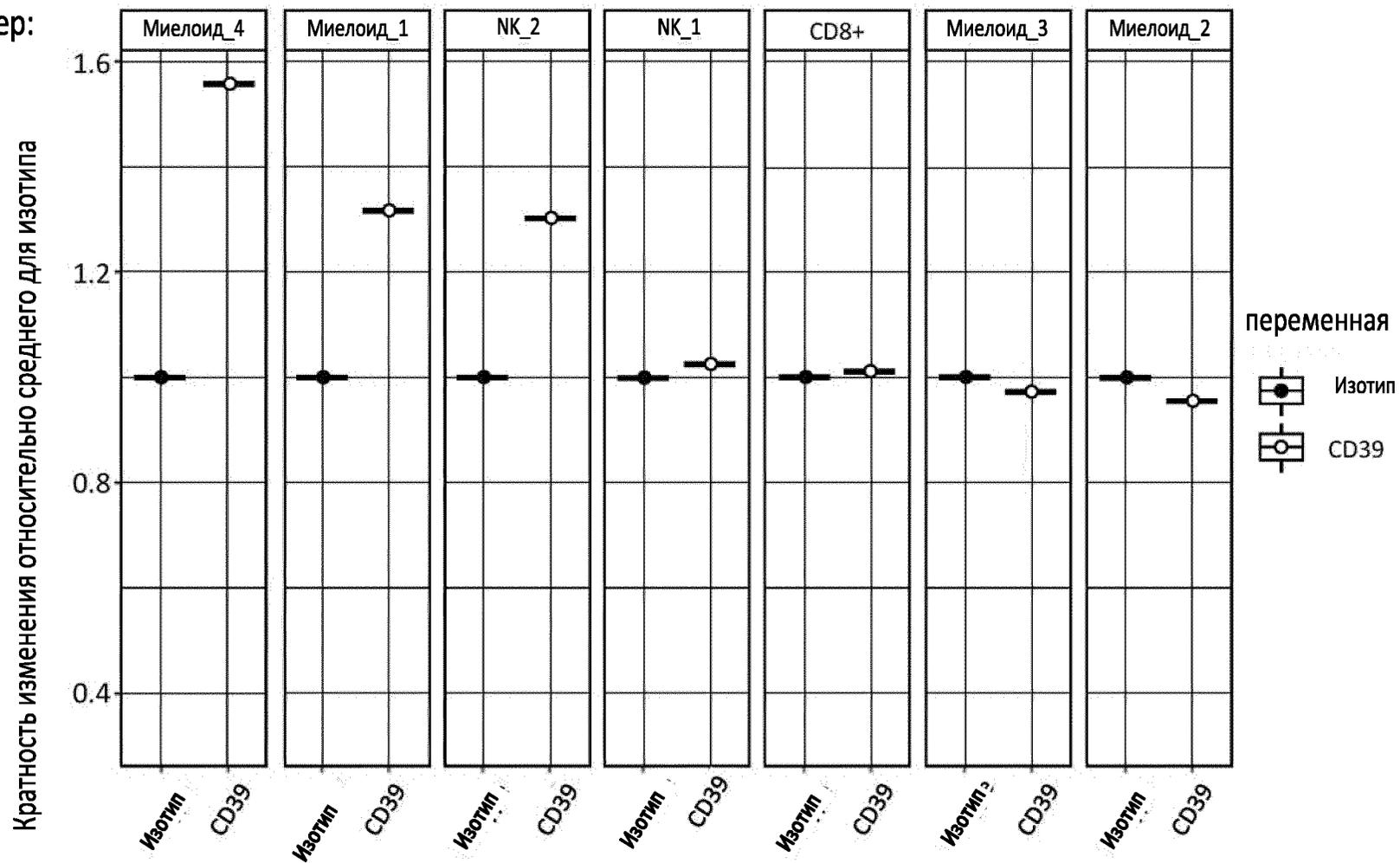


Фиг. 21B



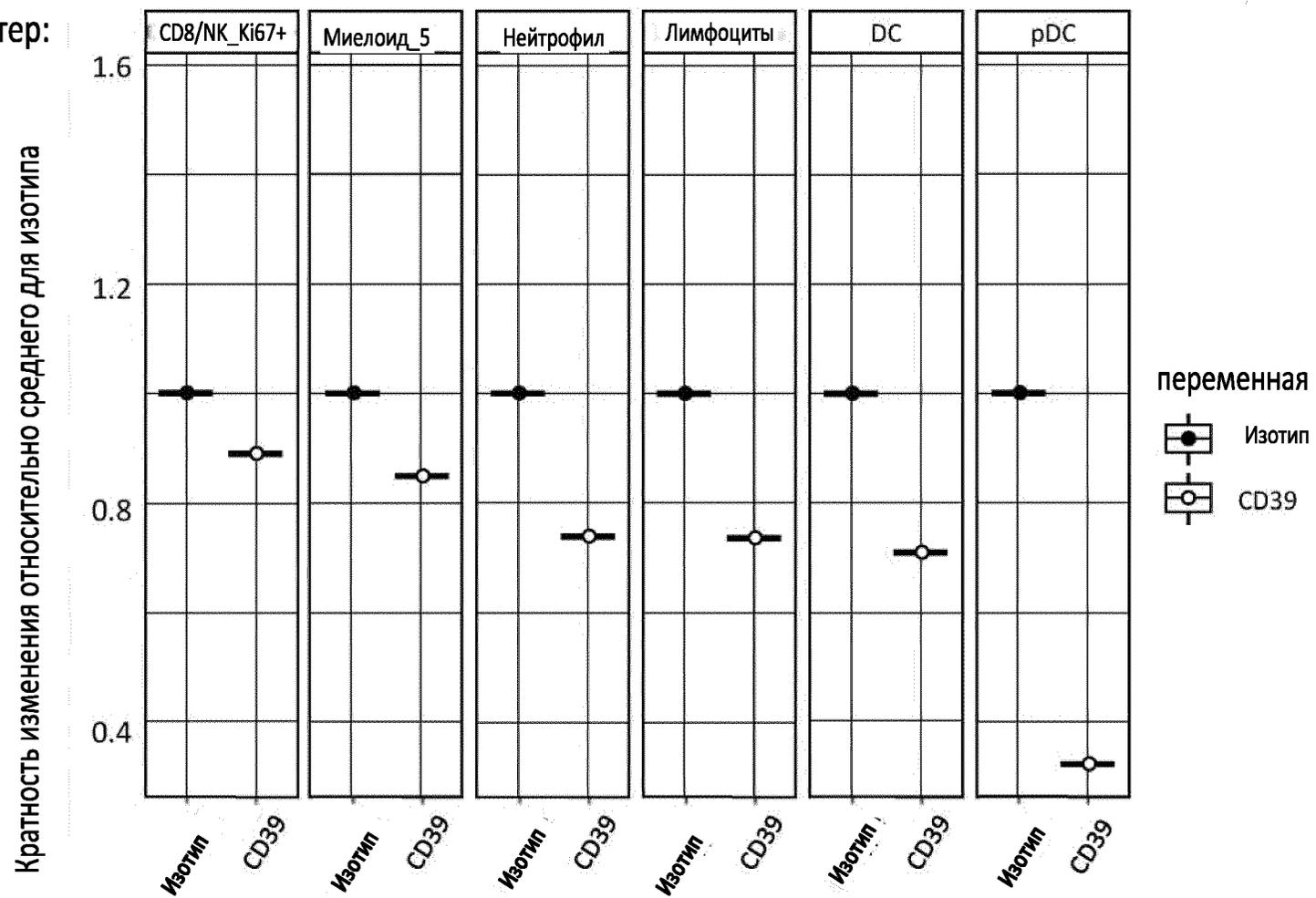
Фиг. 21C

Кластер:



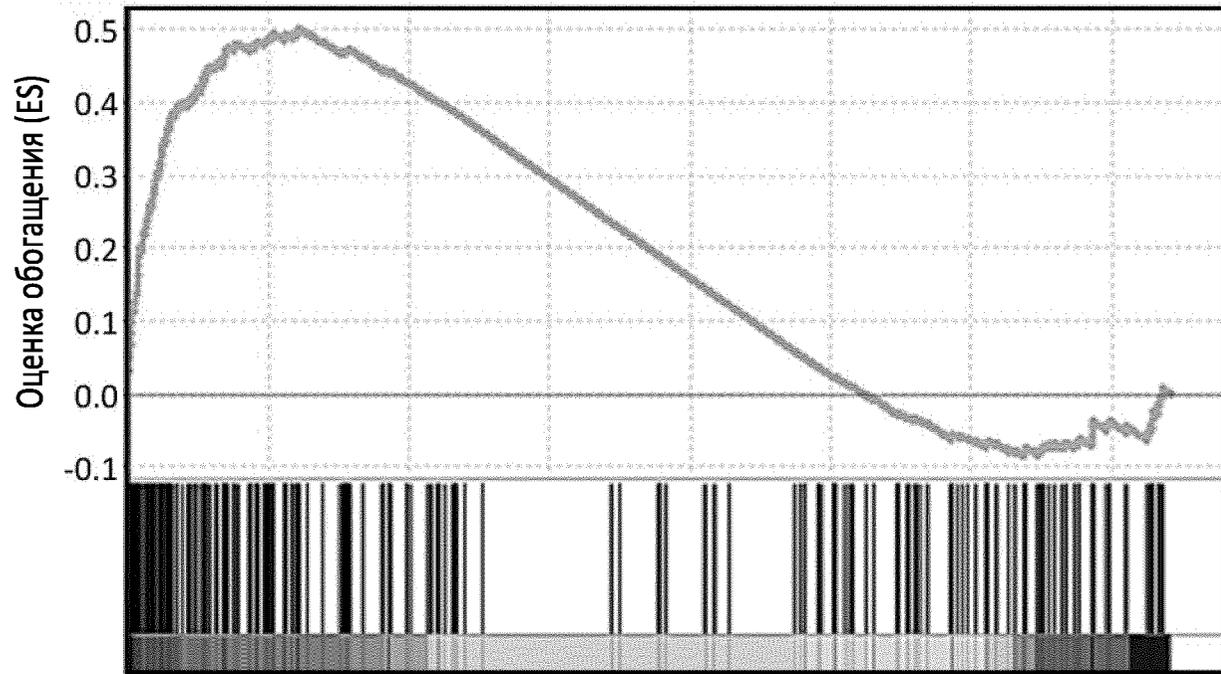
Фиг. 22

Кластер:



Фиг. 22 (продолжение)

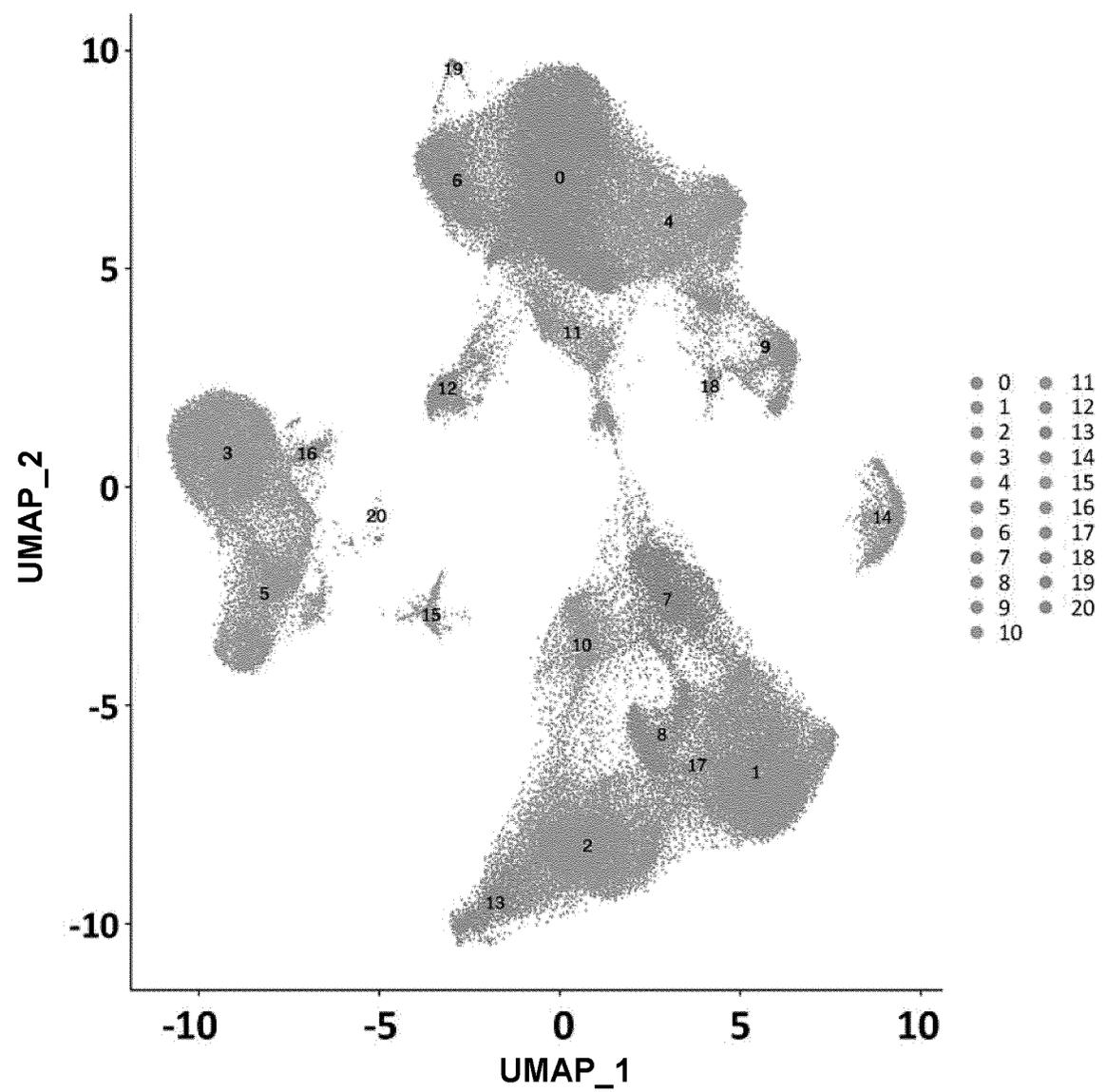
Кривая обогащения:
ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ_ПРИЗНАКИ_ГАММА-ИНТЕРФЕРОНОВОГО_ОТВЕТА



Повышение экспрессии
генов после лечения
антителом к CD39

Фиг. 23А

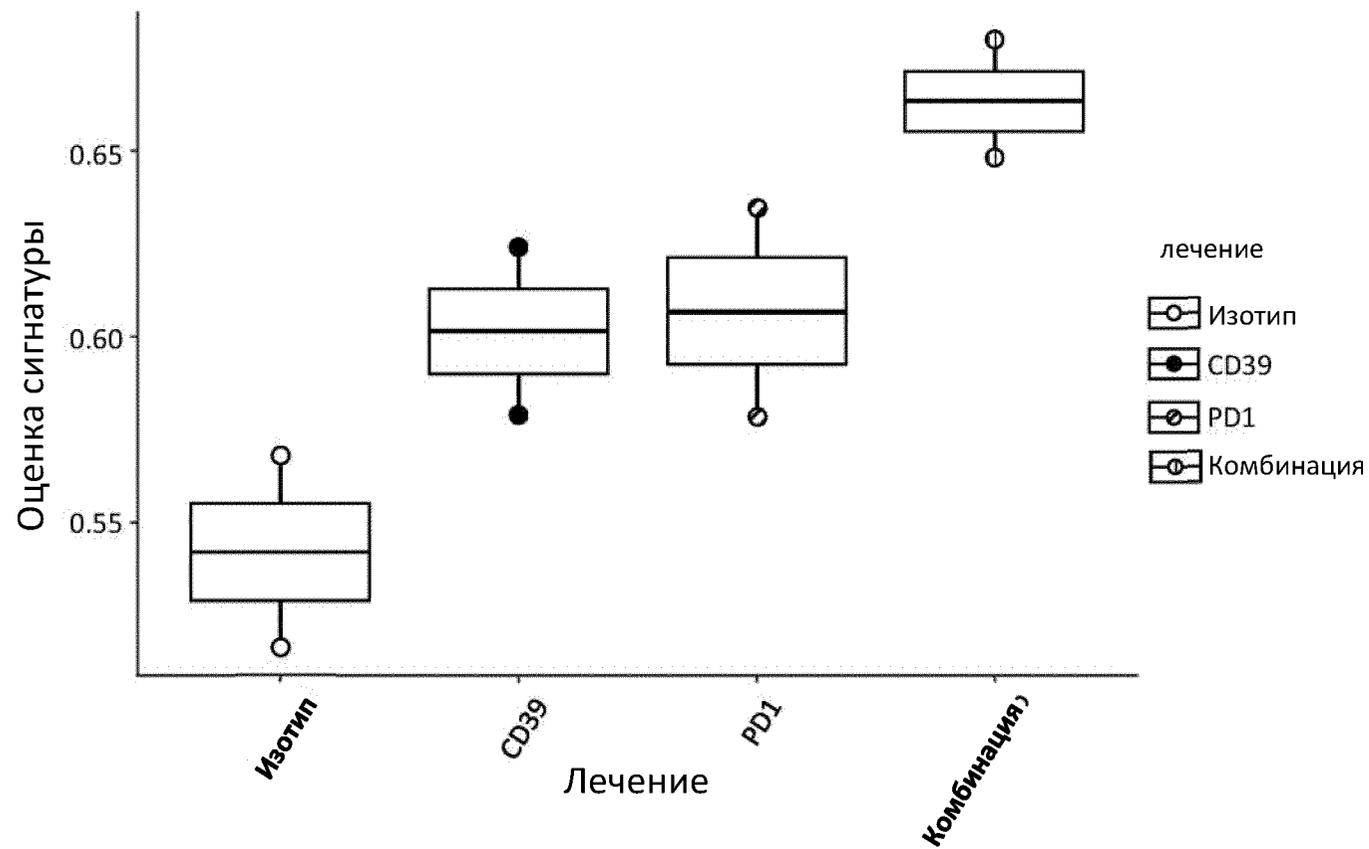
Снижение экспрессии генов
после лечения антителом к
CD39



Φιγ. 23B

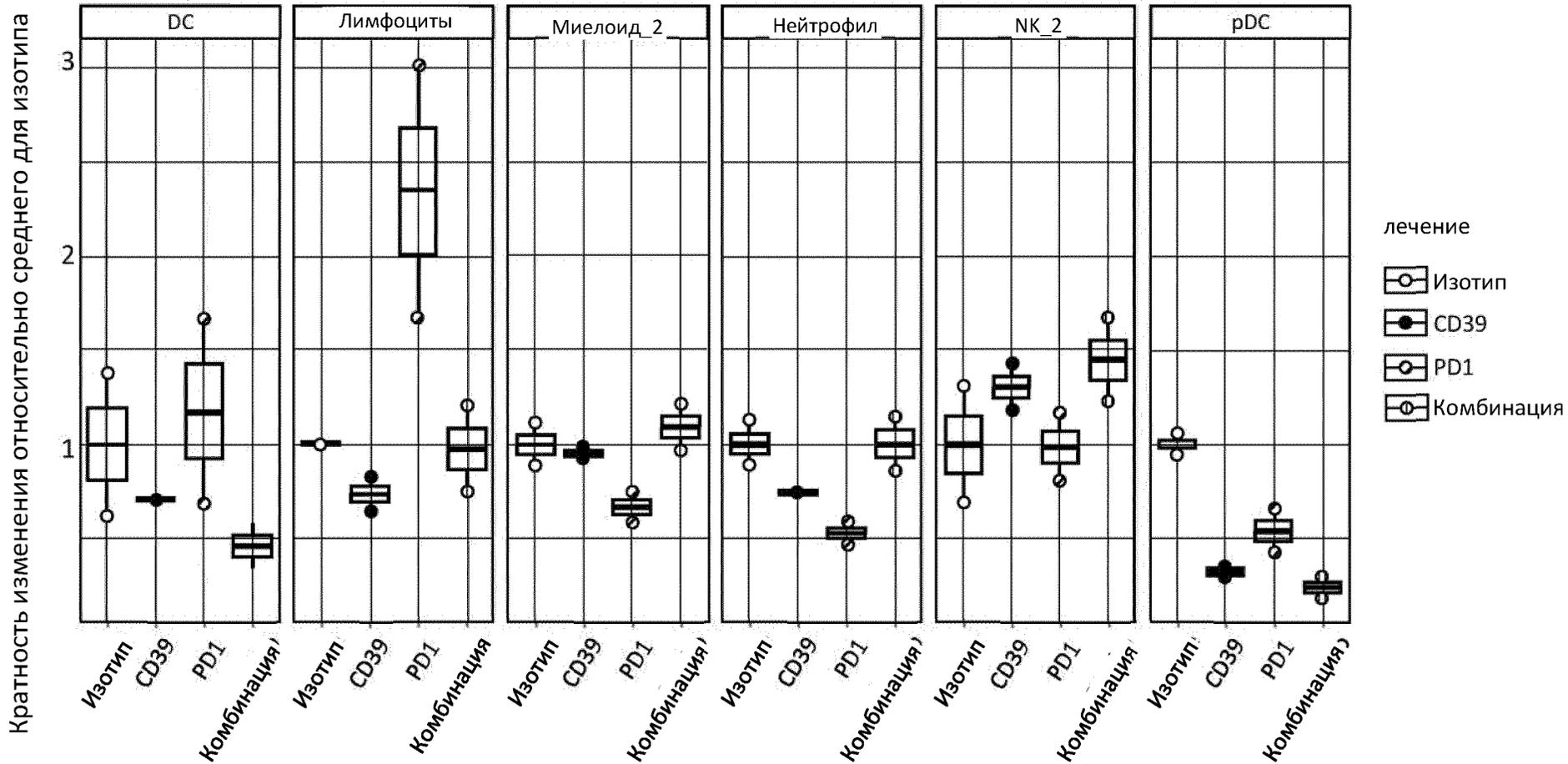
Оценка сигнатуры ИФН-гамма в макрофагах

Субпопуляция на F480+



Фиг. 24

Кластер:



Фиг. 25