

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291150 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.09.09

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

(22) Дата подачи заявки
2020.10.14

(54) АНТИТЕЛА, НАЦЕЛЕННЫЕ НА FLT3, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 62/915,120

(32) 2019.10.15

(33) US

(86) PCT/US2020/055480

(87) WO 2021/076554 2021.04.22

(71) Заявитель:
ДРЭГОНФЛАЙ ТЕРАПЬЮТИКС,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

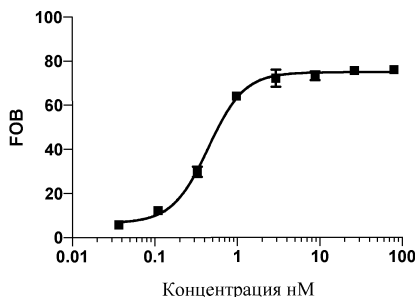
Баруах Хеманта, Чанг Грегори П.,
Ченг Энн Ф., Гринберг Ася, Джуо Зонг
Шон, МакКуэйд Томас Дж. (US)

(74) Представитель:

Гизатуллин Ш.Ф., Угрюмов В.М.,
Гизатуллина Е.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В. (RU)

(57) Раскрыты белки с переменными доменами тяжелой и легкой цепей антитела, которые могут быть спарены для образования антигенсвязывающего сайта, нацеленного на FLT3 на клетке, фармацевтические композиции, содержащие такие белки, и терапевтические способы с применением таких белков и фармацевтических композиций, в том числе для лечения рака.

RMA-hFLT3



A1

202291150

202291150

A1

АНТИТЕЛА, НАЦЕЛЕННЫЕ НА FLT3, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 62/915,120, поданной 15 октября 2019 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Данная заявка посредством ссылки полностью включает машиночитаемую форму (Computer Readable Form (CRF)) перечня последовательностей в текстовом формате ASCII. Текстовый файл списка последовательностей под названием «14247-473-888_SEQ_LISTING» был создан 5 октября 2020 г. и имеет размер 152327 байт.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Изобретение относится к белкам с переменными доменами тяжелой и легкой цепей антитела, которые могут быть спарены для образования антигенсвязывающего сайта, нацеленного на FLT3 на клетке, к фармацевтическим композициям, содержащим такие белки, и к терапевтическим способам с применением таких белков и фармацевтических композиций, в том числе для лечения рака.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Рак продолжает оставаться серьезной проблемой для здоровья, несмотря на существенные исследовательские усилия и научные достижения, о которых сообщается в литературе по лечению данного заболевания. Некоторые из наиболее часто диагностируемых видов рака у взрослых включают рак предстательной железы, рак молочной железы и рак легких. Гематологические злокачественные новообразования, хотя и реже, чем солидные раки, характеризуются низкой выживаемостью. Существующие варианты лечения таких видов рака не эффективны для всех пациентов и/или могут иметь существенные побочные эффекты. Другие виды рака также остаются сложными для лечения с использованием существующих терапевтических возможностей.

[0005] Fms-родственная тирозинкиназа 3 (Fms related tyrosine kinase 3 (FLT3)), также называемая FLK2, STK1 или CD135, представляет собой тирозинкиназу рецептора класса III. FLT3 представляет собой трансмембранный белок, включающий пять иммуноглобулиноподобных доменов во внеклеточной области. FLT3 может быть

активирована путем связывания FLT3LG, что индуцирует гомодимеризацию и аутофосфорилирование FLT3. Активированная FLT3 впоследствии фосфорилирует и активирует множественные цитоплазматические эффекторные молекулы, такие как Akt, Erk и mTOR, тем самым способствуя клеточной пролиферации и подавляя апоптоз. Мутации, которые приводят к конститутивной активации FLT3, наблюдались при остром миелоидном лейкозе и остром лимфобластном лейкозе.

[0006] Хотя антитела, которые связывают FLT3, находятся в стадии разработки, все еще остается потребность в новых и эффективных способах лечения рака, связанного с FLT3.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Настоящее изобретение обеспечивает антигенсвязывающие участки, которые связывают FLT3 человека и необязательно связывают FLT3 яванского макака. Данные антигенсвязывающие участки связывают различные эпитопы во внеклеточном домене FLT3, и некоторые из них не конкурируют с FLT3-лигандом (FLT3L) за такое связывание. Некоторые из антигенсвязывающих участков, раскрытых в настоящем документе, связывают уникальные эпитопы по сравнению с эпитопами, на которые нацелены одно или несколько антител против FLT3, известных в данной области техники. Белки и белковые конъюгаты, содержащие такие антигенсвязывающие участки, например, антитела, конъюгаты антитело-лекарственное средство, биспецифические активаторы Т-клеток (bispecific T-cell engagers (BiTE)) и иммуноцитокины, а также иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки), экспрессирующие белок, содержащий такой антигенсвязывающий участок (например, химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor (CAR)), применимы для лечения связанных с FLT3 заболеваний, таких как рак.

[0008] Соответственно, в одном аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) переменный домен тяжелой цепи (VH), включающий определяющую комплементарность область 1 (CDR1), определяющую комплементарность область 2 (CDR2) и определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 55, соответственно; и

(b) переменный домен тяжелой цепи (VL), включающий CDR1, CDR2 и

CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно.

[0009] В некоторых вариантах осуществления CDR3 из VH содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:5. В некоторых вариантах осуществления CDR3 из VH содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:50. В некоторых вариантах осуществления VH содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:37, и VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления VH содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:53, и VL содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления VH и VL содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 9 и 10; 13 и 10; 17 и 10; 9 и 22; 9 и 26; 9 и 30; 9 и 34; 37 и 38; 41 и 42; 45 и 42; или 49 и 42, соответственно.

[0010] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 59, 63 и 54, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 86, 66 и 67, соответственно.

[0011] В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 78, 63, 79, соответственно, и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 80, 66, 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 62, 63, 64, соответственно и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 SEQ ID NO: 65, 66, 67. В некоторых вариантах осуществления VH содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:76, и VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:77. В некоторых вариантах осуществления VH содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:29, и VL содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:84. В некоторых вариантах осуществления VH и VL содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 68 и 69; 72 и 73; или 76 и 77, соответственно.

[0012] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 88 и 89, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 91, 92 и 93, соответственно.

[0013] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 97, 99 и 100, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 101, 102 и 103, соответственно.

[0014] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 98 и 89, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 106, 92 и 93, соответственно.

[0015] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 109, 110 и 111, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 112, 113 и 114, соответственно.

[0016] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 117, 118 и 119, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 120, 121 и 122, соответственно.

[0017] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 98 и 89, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 106, 92 и 93, соответственно.

[0018] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 33 и 127, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 128, 129 и 130, соответственно.

[0019] В другом аспекте настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему участку, который связывает FLT3, содержащему:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 132, 133 и 134, соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 46, соответственно.

[0020] В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает антигенсвязывающий участок, который конкурирует с антигенсвязывающим участком, описанным выше.

[0021] В некоторых вариантах осуществления вышеуказанных аспектов антигенсвязывающий участок связывает FLT3 человека с константой диссоциации (K_D), меньшей или равной 20 нМ, как измерено с помощью поверхностного плазмонного резонанса (surface plasmon resonance (SPR)). В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связывает FLT3 человека с K_D , меньшей или равной 10 нМ, как измерено с помощью SPR. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связывает вариант FLT3 человека, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связывает вариант FLT3 человека, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связывает FLT3 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок не конкурирует с FLT3L за связывание FLT3.

[0022] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде одноцепочечного варибельного фрагмента (scFv). В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82.

[0023] В другом аспекте настоящее изобретение относится к белку, содержащему описанный в настоящем документе антигенсвязывающий участок. В некоторых

вариантах осуществления белок дополнительно содержит константную область тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления каждая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:21.

[0024] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций относительно SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360., Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439, пронумерованных в соответствии с системой нумерации ЕС. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций относительно SEQ ID NO:21, выбранных из Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D и K439E, пронумерованных в соответствии с системой нумерации ЕС. В некоторых вариантах осуществления одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций относительно SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций относительно SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439, пронумерованных в соответствии с системой нумерации ЕС. В некоторых вариантах осуществления одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замены K360E и K409W относительно SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела

содержит замены Q347R, D399V и F405T относительно SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации ЕС. В некоторых вариантах осуществления одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену Y349C относительно SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену S354C относительно SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации ЕС.

[0025] В другом аспекте настоящее изобретение относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, содержащему описанный в настоящем документе белок и молекулу лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления молекула лекарственного средства выбрана из группы, состоящей из ауристатиона, N-ацетил- γ калихимицина, майтанзиноида, пирролобензодиазепина и SN-38.

[0026] В другом аспекте настоящее изобретение относится к иммуноцитокину, содержащему описанный в настоящем документе антигенсвязывающий участок и цитокин. В некоторых вариантах осуществления цитокин выбран из группы, состоящей IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF и IFN α .

[0027] В другом аспекте настоящее изобретение относится к биспецифическому активатору Т-клеток, содержащему антигенсвязывающий участок, описанный в настоящем документе, и антигенсвязывающий участок, который связывает CD3.

[0028] В другом аспекте настоящее изобретение относится к химерному антигенному рецептору (CAR), содержащему:

- (a) описанный в настоящем документе антигенсвязывающий участок;
- (b) трансмембранный домен; и
- (c) внутриклеточный сигнальный домен.

[0029] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен выбран из трансмембранных областей альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, FLT3, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD152 и CD154. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит первичный сигнальный домен, содержащий функциональный сигнальный домен CD3-дзета, общий FcR-гамма (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен, содержащий функциональный сигнальный домен костимулирующего рецептора. В некоторых вариантах осуществления

костимулирующий рецептор выбран из группы, состоящей из OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, лиганда, который связывается с CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS и 4-1BB (CD137) или любой их комбинации.

[0030] В другом аспекте настоящее изобретение относится к выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей описанный в настоящем документе CAR.

[0031] В другом аспекте настоящее изобретение относится к вектору экспрессии, содержащему раскрытую в настоящем документе выделенную нуклеиновую кислоту.

[0032] В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает иммунную эффекторную клетку, содержащую нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии, описанные в настоящем документе.

[0033] В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает иммунную эффекторную клетку, экспрессирующую описанный в настоящем документе CAR. В некоторых вариантах осуществления иммунная эффекторная клетка представляет собой Т-клетку. В некоторых вариантах осуществления Т-клетка представляет собой CD8⁺ Т-клетку, CD4⁺ Т-клетку или НКТ-клетку. В некоторых вариантах осуществления иммунная эффекторная клетка представляет собой НК-клетку.

[0034] В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, иммуноцитокин, биспецифический активатор Т-клеток или иммунную эффекторную клетку, описанные в настоящем документе; и фармацевтически приемлемый носитель.

[0035] В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения рака, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, иммуноцитокина, биспецифического активатора Т-клеток, иммунной эффекторной клетки или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем документе.

[0036] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления гематологическое злокачественное новообразование представляет собой лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза (acute myeloid leukemia (AML)), острого лимфобластного лейкоза (acute lymphoblastic leukemia (ALL)), миелодисплазии, острого Т-лимфобластного лейкоза и острого промиелоцитарного лейкоза. В некоторых вариантах осуществления рак экспрессирует FLT3.

[0037] Данные и другие аспекты и преимущества изобретения иллюстрируются следующими фигурами, подробным описанием и формулой изобретения.

ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0038] Изобретение можно более полно понять со ссылкой на следующие чертежи.

[0039] **ФИГ. 1** представляет собой набор сенсограмм, показывающих SPR-профили антител, собранных из супернатантов мышинных гибридом, связывающихся с hFLT3.

[0040] **ФИГ. 2** представляет собой набор сенсограмм, показывающих SPR-профили антител, собранных из субклонов mAb мыши, связывающихся с hFLT3.

[0041] **ФИГ. 3** представляет собой гистограмму, изображающую снижение способности антител-кандидатов связывать раковые клетки EOL-1, экспрессирующие FLT3, за счет насыщения концентраций растворимого FLT3-лиганда.

[0042] **ФИГ. 4A-4C** представляют собой линейные графики, показывающие связывание анти-FLT3-антитела 1158 с экспрессирующими FLT3 клеточными линиями RMA-hFLT3 (**ФИГ. 4A**), RMA-cFLT3 (**ФИГ. 4B**) и REN (**ФИГ. 4C**).

[0043] **ФИГ. 5** представляет собой линейный график, показывающий связывание анти-FLT3-антитела 1158 с клетками MOLM-13, которые экспрессируют FLT3 с мутацией T227M.

[0044] **ФИГ. 6A-6D** представляют собой гистограммы, показывающие опосредованный NK-клетками лизис линий раковых клеток, экспрессирующих FLT3, EOL-1 (**ФИГ. 6A**), REN (**ФИГ. 6B**), RS4-11 (**ФИГ. 6C**) и MV4-11 (**ФИГ. 6D**) в присутствии TrNKET F3'-1158 и исходного моноклонального антитела.

[0045] **ФИГ. 7A-7B** представляют собой гистограммы, показывающие фосфорилирование FLT3 под действием TrNKET F3'-1158 и исходного моноклонального антитела в отсутствие (**ФИГ. 7A**) или в присутствии (**ФИГ. 7B**) FLT3-лиганда. Образец FLT3-лиганда на **ФИГ. 7A** служит положительным контролем.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0046] Настоящее изобретение обеспечивает антигенсвязывающие участки, которые связывают FLT3 человека и необязательно связывают FLT3 яванского макака. Данные антигенсвязывающие участки связывают различные эпитопы во внеклеточном домене FLT3, и некоторые из таких антигенсвязывающих участков не конкурируют с FLT3-лигандом (FLT3L) за такое связывание. Белки и белковые конъюгаты, содержащие такие антигенсвязывающие участки, например, антитела, конъюгаты антитело-лекарственное

средство, биспецифические Т-клеточные активаторы (BiTE) и иммуноцитокнины, а также иммунные эффекторныe клетки (например, Т-клетки), экспрессирующие белок, содержащий такой антигенсвязывающий участок (например, химерный антигенный рецептор (CAR)), применимы для лечения связанных с FLT3 заболеваний, таких как рак.

[0047] Настоящее изобретение обеспечивает антигенсвязывающие белки, которые связывают FLT3 на раковой клетке, и фармацевтические композиции, содержащие такие белки, и терапевтические способы с использованием таких белков и фармацевтических композиций, в том числе для лечения рака. Различные аспекты настоящего изобретения изложены в разделах ниже; однако аспекты изобретения, описанные в одном конкретном разделе, не должны ограничиваться каким-либо конкретным разделом.

[0048] Чтобы облегчить понимание настоящего изобретения, ниже определен ряд терминов и фраз.

[0049] Используемые в настоящем документе формы единственного числа означают «один или несколько» и включают множественное число, если только контекст не является неподходящим.

[0050] Используемый в настоящем документе термин «антигенсвязывающий участок» относится к части молекулы иммуноглобулина, которая участвует в связывании антигена. В антителах человека антигенсвязывающий участок образован аминокислотными остатками N-концевых вариабельных («V») областей тяжелой («H») и легкой («L») цепей. Три сильно дивергирующих отрезка в V-областях тяжелой и легкой цепей называются «гипервариабельными областями», которые расположены между более консервативными фланкирующими участками, известными как «каркасные области» или «FR (framework region)». Таким образом, термин "FR" относится к аминокислотным последовательностям, которые естественным образом встречаются между гипервариабельными областями иммуноглобулинов и рядом с ними. В молекуле человеческого антитела три гипервариабельных области легкой цепи и три гипервариабельных области тяжелой цепи расположены относительно друг друга в трехмерном пространстве, образуя антигенсвязывающую поверхность. Антигенсвязывающая поверхность комплементарна трехмерной поверхности связанного антигена, и три гипервариабельных области каждой тяжелой и легкой цепи называются «областями, определяющими комплементарность» или «CDR (complementarity-determining regions)». У некоторых животных, таких как верблюды и хрящевые рыбы, антигенсвязывающий участок образован одной цепью антитела, обеспечивающей «однодоменное антитело». Антигенсвязывающие участки могут

существовать в интактном антителе, в антигенсвязывающем фрагменте антитела, который сохраняет антигенсвязывающую поверхность, или в рекомбинантном полипептиде, таком как scFv, с использованием пептидного линкера для соединения переменного домена тяжелой цепи с переменным доменом легкой цепи в одном полипептиде. Все описанные в настоящем документе положения аминокислот в переменных областях тяжелой или легкой цепи пронумерованы в соответствии с нумерацией Кабата.

[0051] CDR антигенсвязывающего участка можно определить способами, описанными у Kabat et al., *J. Biol. хим.* 252, 6609-6616 (1977) и Kabat et al., *Sequences of protein of immunological interest.* (1991), Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987), and MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996). CDR, определенные в соответствии с данными определениями, обычно включают перекрывающиеся или поднаборы аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. В некоторых вариантах осуществления термин «CDR» представляет собой CDR, как определено MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996) и Martin A., *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*, в *Antibody Engineering*, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001). В некоторых вариантах осуществления термин «CDR» представляет собой CDR, как определено у Kabat et al., *J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977) и Kabat et al., *Sequences of protein of immunological interest.* (1991). В некоторых вариантах осуществления CDR тяжелой цепи и CDR легкой цепи антитела определяются с использованием различных соглашений. Например, в некоторых вариантах осуществления CDR тяжелой цепи определены согласно MacCallum (выше), и CDR легкой цепи определены согласно Kabat (выше). CDRH1, CDRH2 и CDRH3 обозначают CDR тяжелой цепи, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 обозначают CDR легкой цепи.

[0052] Используемые в настоящем документе термины «субъект» и «пациент» относятся к организму, подлежащему лечению способами и композициями, описанными в настоящем документе. Такие организмы предпочтительно включают, но не ограничиваются ими, млекопитающих (например, мышей, обезьян, лошадей, крупного рогатого скота, свиней, псовых, кошек и тому подобное) и более предпочтительно включают людей.

[0053] Используемый в настоящем документе термин «эффективное количество» относится к количеству соединения (например, соединения по настоящему изобретению), достаточному для достижения полезных или желаемых результатов.

Эффективное количество можно вводить за один или несколько приемов, применений или доз, и оно не предназначено для ограничения конкретным составом или путем введения. Используемый в настоящем документе термин «лечение» включает любой эффект, например, ослабление, снижение, модулирование, улучшение или устранение, который приводит к улучшению состояния, заболевания, расстройства и тому подобного, или к облегчению их симптома.

[0054] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтическая композиция» относится к комбинации активного средства с носителем, инертным или активным, что делает композицию особенно подходящей для диагностического или терапевтического применения *in vivo* или *ex vivo*.

[0055] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к любому из стандартных фармацевтических носителей, таких как забуференный фосфатом физиологический раствор, вода, эмульсии (например, такие как эмульсии масло/вода или вода/масло) и различные типы смачивающих средств. Композиции также могут включать стабилизаторы и консерванты. Примеры носителей, стабилизаторов и адъювантов см, например, в Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed, Mack Publ. Co, Easton, PA [1975].

[0056] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к любой фармацевтически приемлемой соли (например, кислоты или основания) соединения по настоящему изобретению, которая при введении субъекту способна давать соединение по настоящему изобретению или активный метаболит или его остаток. Как известно специалистам в данной области техники, «соли» соединений по настоящему изобретению могут быть получены из неорганических или органических кислот и оснований. Примеры кислот включают, но не ограничиваются ими, соляную, бромистоводородную, серную, азотную, хлорную, фумаровую, малеиновую, фосфорную, гликолевую, молочную, салициловую, янтарную, толуол-*p*-сульфоновую, винную, уксусную, лимонную, метансульфоновую, этансульфоновую, муравьиную, бензойную, малоновую, нафталин-2-сульфокислоту, бензолсульфокислоту и тому подобное. Другие кислоты, такие как щавелевая, хотя сами по себе не являются фармацевтически приемлемыми, могут быть использованы для получения солей, применимых в качестве промежуточных соединений при получении соединений по настоящему изобретению и их фармацевтически приемлемых кислотно-аддитивных солей.

[0057] Примеры оснований включают, но не ограничиваются ими, гидроксиды щелочных металлов (например, натрия), гидроксиды щелочноземельных металлов (например, магния), аммиак и соединения формулы NW_4^+ , в которой W представляет собой C_{1-4} алкил, и тому подобное.

[0058] Примеры солей включают, но не ограничиваются ими: ацетат, адипат, альгинат, аспартат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, бутират, цитрат, камфорат, камфорсульфонат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, флукогептаноат, глицерофосфат, полусульфат, гептаноат, гексаноат, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактат, малеат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, оксалат, пальмоат, пектинат, персульфат, фенилпропионат, пикрат, пивалат, пропионат, сукцинат, тартрат, тиоцианат, тозилат, ундеканоат и тому подобное. Другие примеры солей включают анионы соединений по настоящему изобретению, соединенные с подходящим катионом, таким как Na^+ , NH_4^+ и NW_4^+ (где W представляет собой C_{1-4} алкильную группу) и тому подобное.

[0059] Для терапевтического применения соли соединений по настоящему изобретению считаются фармацевтически приемлемыми. Однако соли кислот и оснований, которые не являются фармацевтически приемлемыми, также могут найти применение, например, при получении или очистке фармацевтически приемлемого соединения.

[0060] Используемый в настоящем документе термин «FLT3» (также известный как FLK2, STK1 или CD135) относится к белку Uniprot с регистрационным номером P36888 и родственными изоформам.

[0061] Используемый в настоящем документе термин «FLT3L» (также известный как FLT3-лиганд) относится к белку Uniprot с регистрационным номером P49771 и родственными изоформам.

[0062] На протяжении всего описания, если композиции описаны как имеющие, включающие или содержащие определенные компоненты, или где процессы и способы описаны как имеющие, включающие или включающие определенные стадии, предполагается, что, кроме того, существуют композиции по настоящему изобретению, которые состоят в основном или состоят перечисленных компонентов, и что существуют процессы и способы согласно настоящему изобретению, которые в основном состоят или состоят перечисленных стадий обработки.

[0063] Как правило, композиции, в которых указано процентное содержание, даны по массе, если не указано иное. Далее, если переменная не сопровождается определением, то предыдущее определение переменной управляет.

[0064] Ниже более подробно обсуждаются различные признаки и аспекты изобретения.

I. Антигенсвязывающий участок

[0065] В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3 человека. Последовательности VH, VL, CDR и scFv иллюстративных участков связывания антигена перечислены в таблице 1. Последовательности CDR идентифицированы в соответствии со схемой нумерации Chothia.

Таблица 1: Последовательности иллюстративных антигенсвязывающих участков, которые связывают FLT3

Клон	VH	VL
12H10.G7	EVQLQESGPEVKPGASVKMSC KASGYTFTRYVMHWVQRPG QGLEWIGFINPYNDDTKYNEK FKGKATLTSDKSSSTAYMELS SLTSEDSAVYHRCARWRQLGSL DSWGQGTTTLTVSS [SEQ ID NO:1] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASESVDITYGSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPARFSGSG SRSDFTLTIDPVEADDAATYYCQ QNNEEPWTFGGGKLEIK [SEQ ID NO:2] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
Гуманизи- рованный 12H10.G7 GB87/GB95 (обратные мутации в VH и VL подчеркнут ы)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYHRCARWRQL GSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDITYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRDFTLTISLQAEDAATYYC QNNEEPWTFGGGKVEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]

Клон	VH	VL
	CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизованного 12H10.G7 GB87/GB95	GB87 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYHCARWRQLGSLDSWGQGT T TVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QKPGQPPKLLIYLA S NLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:3] GB95 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQKPG QPPKLLIYLA S NLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY HCARWRQLGSLDSWGQGT T TVTVSS [SEQ ID NO:12]	
Гуманизованный 12H10.G7 GB88/GB96 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYH <u>C</u> ARWRQL GSLDSWGQGT T TVTVSS [SEQ ID NO:13] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSP <u>A</u> SLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQKPG QPPKLLIYLA S NLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDA <u>A</u> ATYYC QQNNEEPWTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизованного 12H10.G7 GB88/GB96	GB88 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYHCARWRQLGSLDSWGQGT T TVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QKPGQPPKLLIYLA S NLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK	

Клон	VH	VL
	<p>[SEQ ID NO:15]</p> <p>GB96 (VL-VH):</p> <p>DIVMTQSPASLA VSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDT SASTAYMELSSLRSEDTAVY H CARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:16]</p>	
<p>Гуманизиро ванный 12H10.G7 GB89/GB97 (обратные мутации в VH и VL подчеркнут ы)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARWRQL GSLDSWGQGTTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:17]</p> <p>CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]</p> <p>CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]</p> <p>CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]</p>	<p>DIVMTQSPASLA VSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISSLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:10]</p> <p>CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]</p> <p>CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]</p> <p>CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]</p>
<p>scFv гуманизиро ванного 12H10.G7 GB89/GB97</p>	<p>GB89 (VH-VL):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPASLA VSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:19]</p> <p>GB97 (VL-VH):</p> <p>DIVMTQSPASLA VSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY YCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:20]</p>	

Клон	VH	VL
<p>Гуманизи- рованный 12H10.G7 GB90/GB98 (обратные мутации в VH и VL подчеркнут ы)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYH<u>C</u>ARWRQL GSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:9]</p> <p>CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]</p> <p>CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]</p> <p>CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]</p>	<p>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISSLQAEDA<u>A</u>ATYYC QQNNEEPWTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:22]</p> <p>CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]</p> <p>CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]</p> <p>CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]</p>
<p>scFv гуманизиро- ванного 12H10.G7 GB90/GB98</p>	<p>GB90 (VH-VL):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYH<u>C</u>ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:23]</p> <p>GB98 (VL-VH):</p> <p>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY H<u>C</u>ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:24]</p>	
<p>Гуманизиро- ванный 12H10.G7 GB91/GB99 (обратные мутации в VH и VL подчеркнут ы)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYH<u>C</u>ARWRQL GSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:9]</p> <p>CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]</p> <p>CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]</p>	<p>DIVMTQSP<u>A</u>SLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDA<u>A</u>ATYYC QQNNEEPWTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:26]</p> <p>CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]</p> <p>CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]</p>

Клон	VH	VL
	CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 12H10.G7 GB91/GB99	<p>GB91 (VH-VL):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGT^UTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:27]</p> <p>GB99 (VL-VH):</p> <p>DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGT^UTVTVSS [SEQ ID NO:28]</p>	
Гуманизированный 12H10.G7 GB92/GB100 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLQLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGT^UTVTVSS [SEQ ID NO:9]</p> <p>CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]</p> <p>CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]</p> <p>CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]</p>	<p>DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVATYYCQQNNEEPWTFGGGKVEIK [SEQ ID NO:30]</p> <p>CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]</p> <p>CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]</p> <p>CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]</p>
scFv гуманизированного 12H10.G7 GB92/GB100	<p>GB92 (VH-VL):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGT^UTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK</p>	

Клон	VH	VL
	<p>[SEQ ID NO:31]</p> <p>GB100 (VL-VH):</p> <p>DIVMTQSPASLA VSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED TAVY H CARWRQLGSLDSWGQGT TTVTV</p> <p>[SEQ ID NO:32]</p>	
<p>Гуманизиро ванный 12H10.G7 GB93/GB10 1 (обратные мутации в VH и VL подчеркну ты)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSED TAVYH CARWRQL GSLDSWGQGT TTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:9]</p> <p>CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]</p> <p>CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]</p> <p>CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]</p>	<p>DIVMTQSPASLA VSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISSLQAEDA AVYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:34]</p> <p>CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]</p> <p>CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]</p> <p>CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]</p>
<p>scFv гуманизиро ванного 12H10.G7 GB93/GB10 1</p>	<p>GB93 (VH-VL):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYH CARWRQLGSLDSWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPASLA VSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDA AVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:35]</p> <p>GB101 (VL-VH):</p> <p>DIVMTQSPASLA VSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDA AVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED TAVY H CARWRQLGSLDSWGQGT TTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:36]</p>	

Клон	VH	VL
Гуманизи- рованный 12H10.G7 GB94/GB10 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTSASTAYM ELSSLRSEDVAVYYCARWRQL GSLDSWGQGTITVTVSS [SEQ ID NO:37] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLAASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK [SEQ ID NO:38] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизиро- ванного 12H10.G7 GB94/GB10 2	GB94 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:39] GB102 (VL-VH): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVY YCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSS [SEQ ID NO:40]	
Гуманизи- рованный 12H10.G7 GB102 D101E	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTSASTAYM ELSSLRSEDVAVYYCARWRQL GSLESWGQGTITVTVSS [SEQ ID NO:41] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLAASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]

Клон	VH	VL
	CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 12H10.G7 GB102 D101E	<p>VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYYCARWRQL GSLES WGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAV SLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLE SGVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCG TKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:43]</p> <p>VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY YCARWRQL GSLES WGQGTTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:44]</p>	
Гуманизи- рованный 12H10.G7 GB102 M34I	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCASGYTFTRYVIHWVRQAPG QRLEWMGFINPYNDDTKYNE KFKGRVTITRDTSASTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARWRQLGS LDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:45] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVD TYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 12H10.G7 GB102 M34I	<p>VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQC LEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY</p>	

Клон	VH	VL
	<p>QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:47]</p> <p>VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:48]</p>	
<p>Гуманизированный 12H10.G7 GB102 M34I/D101E</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLESWGQGTTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:49]</p> <p>CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]</p> <p>CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]</p> <p>CDR3: WRQLGSLES [SEQ ID NO:50]</p>	<p>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:42]</p> <p>CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]</p> <p>CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]</p> <p>CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]</p>
<p>scFv гуманизованного 12H10.G7 GB102 M34I/D101E</p>	<p>VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:51]</p> <p>VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGF</p>	

Клон	VH	VL
	FINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYY CARWRQLGSLESWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:52]	
Гуманизи- рованный консенсус 1 12H10.G7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVX ₁ HWVRQ APGQRLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTASTAY MELSSLRSEDVAVYYCARWR QLGSX ₂ SWGQGTTVTVSS где X ₁ представляет собой M или I, и X ₂ представляет собой E или D [SEQ ID NO:53] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLXS, где X представляет собой E или D [SEQ ID NO:55]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDITYGSSFVHWYQQKPG QPKLLIYLAASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
Гуманизи- рованный консенсус 2 12H10.G7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITX ₁ DTASTAY MELSSLRSEDVAVYX ₂ CARWR QLGSLSWGQGTTVTVSS где X ₁ представляет собой S или R, и X ₂ представляет собой Y или H [SEQ ID NO: 56] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPX ₁ SLAVSLGERATINC RASESVDITYGSSFVHWYQQKPG QPKLLIYLAASNLESGVPDRFSGS GSX ₂ TDFTLTISSLQAEDX ₃ AX ₄ YY CQQNNEEPWTFGGGTKVEIK где X ₁ представляет собой A или D, X ₂ представляет собой R или G, и X ₃ представляет собой A или V, и X ₄ представляет собой T или V [SEQ ID NO:57] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]

Клон	VH	VL
<p>Гуманизи- рованный консенсус 3 12H10.G7</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVX₁HWVRQ APGQCLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTSASTAY MELSSLRSED^AVVYYCARWR QLGSLX₂SWGQGT^TTVTVSS</p> <p>где X₁ представляет собой M или I, и X₂ представляет собой E или D</p> <p>[SEQ ID NO: 58]</p> <p>CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]</p> <p>CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]</p> <p>CDR3: WRQLGSLXS, где X представляет собой E или D [SEQ ID NO:55]</p>	<p>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVD^TTYGSS^FVH^WYQ^QKPG QPPKLLIYLASNLES^GVPDR^FSGS GSGTDF^TLTISSLQAED^VAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:42]</p> <p>CDR1: RASESVD^TTYGSS^FVH [SEQ ID NO:6]</p> <p>CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]</p> <p>CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]</p>
<p>14A5.E8</p>	<p>EVQLQESGAELVQPGASVRLS CKASGYTF^TSYWINWVKQRP GQGLEWIGNIYPGSSII^NY^NEN FKNRATLTVDTSSSTAYMQLS SLTSD^DSAVYYCARRVVYLYF DYWGQGT^TLVTVSS [SEQ ID NO:60]</p> <p>CDR1: GYT^FT^SY [SEQ ID NO:62]</p> <p>CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63]</p> <p>CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]</p>	<p>QIVLTQSPA^IMSASPGEKVT^MTC SASSSVSYM^HWYQ^QKSGTSPKR WIYDTSK^LASGVPAR^FSGSGSGT SYSLTISSMEAE^DAATYYCQ^QWT SKSPTFGGGTKLEIK</p> <p>[SEQ ID NO:61]</p> <p>CDR1: SASSSVSYM^H [SEQ ID NO:65]</p> <p>CDR2: DTSK^LAS [SEQ ID NO:66]</p> <p>CDR3: QQWTSK^SPT [SEQ ID NO:67]</p>
<p>Гуманизи- рованный 14A5.E8 1551/1552 (обратные мутации в VH и VL подчеркну- ты)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQ^RP GKGLEWMGNIYPGSSII^NY^NE NFKNRVTMT^VYDTSS^DTAYME LSSLRSED^AVVYYCARRVVYL YFDYWGQGT^LLVTVSS [SEQ ID NO:68]</p> <p>CDR1: GYT^FT^SY [SEQ ID NO:62]</p>	<p>EIVLTQSPATLSLSPGE^KATLSCS ASSSVSYM^HWYQ^QKPGQAP^RLL IYDTSK^LASGIPAR^FSGSGSGT^SF TLTISSLEPED^AAVYYCQ^QWTSK SPTFGGGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:69]</p> <p>CDR1: SASSSVSYM^H [SEQ ID NO:65]</p>

Клон	VH	VL
	<p>CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63]</p> <p>CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]</p>	<p>CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66]</p> <p>CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]</p>
<p>scFv гуманизи- рованного 14A5.E8 1551/1552</p>	<p>1551 (VH-VL):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQRP GKC LEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTVDTSSDTAYMELSSLRSED TAVYYCARRVVYLYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEIVLTQSPATLSLSPGEKATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQ APRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISSLEPEDAAVYYCQQ WTSKSPTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:70]</p> <p>1552 (VL-VH):</p> <p>EIVLTQSPATLSLSPGEKATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISSLEPEDAAVYYCQQWTSKS PTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQRP GKCLEWMGNIYPGSSII NYNENFKNRVTMTVDTSSDTAYMELSSLRSED TAVYYCARRVVY LYFDYWGQGLVTVSS [SEQ ID NO:71]</p>	
<p>Гуманизи- рованный 14A5.E8 1553/1554</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQAP GKGLEWMGNIYPGSSIIYNE NFKNRVTMTEDTSTDTAYME LSSLRSED TAVYYCARRVVYL YFDYWGQGLVTVSS [SEQ ID NO:72]</p> <p>CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62]</p> <p>CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63]</p> <p>CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]</p>	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYMHYQQKPGQAPRLI IYDTSKLASGIPARFSGSGGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSK SPTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:73]</p> <p>CDR1: SASSSVSYMH [SEQ ID NO:65]</p> <p>CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66]</p> <p>CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]</p>
<p>scFv гуманизи- рованного 14A5.E8 1553/1554</p>	<p>1553 (VH-VL):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQAP GKC LEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSED TAVYYCARRVVYLYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQ APRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ WTSKSPTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:74]</p>	

Клон	VH	VL
	1554 (VL-VH): EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTSKS PFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSI INYNENFKNRVTMTEDTSTDATAYMELSSLRSEDNAVYYCARRVY LYFDYWGQGLVTVSS [SEQ ID NO:75]	
Гуманизиро ванный 14A5.E8 1689 (с созревшей аффинность ю 1553)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFPYYWINWVRQA PGKLEWMGNIYPGSSIINYN ENFKNRVTMTEDTSTDATAYM ELSSLRSEDNAVYYCARRNVY LTFDYWGQGLVTVSS [SEQ ID NO:76] CDR1: GYTFPYY [SEQ ID NO:78] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RNVYLTFDY [SEQ ID NO:79]	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFT LTISSELEPEDAVYYCQQWTSKSP TFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:77] CDR1: SASSSVSYIH [SEQ ID NO:80] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
scFv гуманизиро ванного 14A5.E8 1689 (с созревшей аффинность ю 1553)	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKC LEWMGNIYPGSSIINYNENFKNRVTMTEDTSTDATAYMELSSLRSED NAVYYCARRNVYLTFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGG EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIY DTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTSKSP TFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:81] VL-VH: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIY DTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTSKSP TFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSII NYNENFKNRVTMTEDTSTDATAYMELSSLRSEDNAVYYCARRNVY LTFDYWGQGLVTVSS [SEQ ID NO:82]	

Клон	VH	VL
<p>Гуманизи- рованный консенсус 14A5.E8</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFX₁X₂YWINWVRQ X₃PGKX₄LEWMGNIYPGSSIIIN YNENFKNRVTMTX₅DTSX₆DT AYMELSSLRSEDTAVYYCARR X₇VYLYX₈FDYWGQGLVTVSS</p> <p>где X₁ представляет собой P или T, X₂ представляет собой S или Y, X₃ представляет собой A или R, X₄ представляет собой C или G, X₅ представляет собой V или E, X₆ представляет собой S или T, X₇ представляет собой N или V, и X₈ представляет собой T или Y</p> <p>[SEQ ID NO: 29]</p> <p>CDR1: GYTFX₁X₂Y, где X₁ представляет собой P или T, и X₂ представляет собой S или Y [SEQ ID NO: 59]</p> <p>CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63]</p> <p>CDR3: RX₁VYLYX₂FDY, где X₁ представляет собой N или V, и X₂ представляет собой T или Y [SEQ ID NO:54]</p>	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYXHWYQQKPGQAPRLLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDAVYYCQQWTSKSP TFGGGTKVEIK</p> <p>где X представляет собой M или I</p> <p>[SEQ ID NO:84]</p> <p>CDR1: SASSSVSYXH, где X представляет собой M или I [SEQ ID NO:86]</p> <p>CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66]</p> <p>CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]</p>
<p>11F4.B9</p>	<p>EVQLQESGPEVVKPGASVKISC KASGYSFTGYYIHWVKQGPE KSLEWIGEIIPSTGSTIYNQKFK AKATLTVDKSSSTAYLQLKSL TSEDSAVYYCERWGDYYGRD YWGQGTSTVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:85]</p> <p>CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87]</p> <p>CDR2: IPSTGS [SEQ ID NO:88]</p> <p>CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]</p>	<p>DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASESVDIYGNSFMHWYQQKPGQ PPKLLIYRASNLESIPARFSGSGS RTDFTLTINPVEADDVATYYCQQ SNEDPRTFGGGTKLEIK</p> <p>[SEQ ID NO:90]</p> <p>CDR1: RASESVDIYGNSFMH [SEQ ID NO:91]</p> <p>CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92]</p> <p>CDR3: QQSNEDPRT [SEQ ID NO:93]</p>
<p>Гуманизи- рованный</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSFTGYYIHWVRQGP</p>	<p>DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDIYGNSFMHWYQQKPG</p>

Клон	VH	VL
11F4.B9 (обратные мутации подчеркнуты)	<p>GQGLEWMGEIIPSTGSTIYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCERWGDYYG RDYWGQGTLTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:14]</p> <p>CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87]</p> <p>CDR2: IPSTGS [SEQ ID NO:88]</p> <p>CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]</p>	<p>QPPKLLIYRASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTINSLQAEDVATYYC QQSNEDPRTFGGGTKVEIK</p> <p>[SEQ ID NO:94]</p> <p>CDR1: RASESVDIYGNSFMH [SEQ ID NO:91]</p> <p>CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92]</p> <p>CDR3: QQSNEPRT [SEQ ID NO:93]</p>
4A4.A3	<p>QVTLKESGPGILQPSQTLSLTC SFSGFLTTYGMGVGWIRQPS GKGLEWLANIWFNDNKYYNS TLKSRLTISKDTSNNQVFLKIS SVDTTDTATYYCAQITTVVGT FDYWGQGSPLTVSP [SEQ ID NO:95]</p> <p>CDR1: GFLTTYGM [SEQ ID NO:97]</p> <p>CDR2: WFNDN [SEQ ID NO:99]</p> <p>CDR3: ITTVVGTFDY [SEQ ID NO:100]</p>	<p>RIVMTQSPTTMAASPGEKITITCS ASSSISSIIYLHWYQQKPGFSPKLL IFRTSDLAGVPRFGGSGSGTSYSL TIGTMEAEDVATYYCQQGSSFPR TFGGGTKLEIK</p> <p>[SEQ ID NO:96]</p> <p>CDR1: SASSSISSIIYLH [SEQ ID NO:101]</p> <p>CDR2: RTSDLAS [SEQ ID NO:102]</p> <p>CDR3: QQGSSFPR [SEQ ID NO:103]</p>
4A4.H7	<p>EVQLQESGPEVKPGASVKISC KASGYSFTGYYIHWVKQSPEE SLEWIGEIYPNTGITYNQKFT AKATLTVDKSSNTAYMQLKS LTSEDSAVYYCTRWGDYYGR DYWGQGTSVTVSS</p> <p>[SEQ ID NO:104]</p> <p>CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87]</p> <p>CDR2: YPNTGI [SEQ ID NO:98]</p> <p>CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]</p>	<p>DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASETVDTHGNSFMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNLESGIPARFSGS GSRTDFTLTINPVEADDVATYYC QQSNEDPRTFGGGTKLEIK</p> <p>[SEQ ID NO:105]</p> <p>CDR1: RASETVDTHGNSFMH [SEQ ID NO:106]</p> <p>CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92]</p> <p>CDR3: QQSNEPRT [SEQ ID NO:93]</p>
15A11.C8	<p>EVQLQESGGGLVKTGGSRKLS CAASGFTFSDYGMHWVRHTP EKGLEWVYISSGGNTIFYTD</p>	<p>DIQMTQTTSSLSASLGDRVTIRCR ASQDITNYLNWYQQKPDGAVKL LISYTSILQSGVPSRFSGSGSGTD</p>

Клон	VH	VL
	<p>TVKGRFTISRDNAKNTLFLQM TSLRSEDТАVYFCVRRQGYYYA MDYWGGQASVTVSS [SEQ ID NO:107]</p> <p>CDR1: GFTFSDY [SEQ ID NO:109]</p> <p>CDR2: SSGGNT [SEQ ID NO:110]</p> <p>CDR3: QGYYYAMDY [SEQ ID NO:111]</p>	<p>YSLTISNLEQGDVATYFCQQGSS LPWTFGGGТKLEIK [SEQ ID NO:108]</p> <p>CDR1: RASQDITNYLN [SEQ ID NO:112]</p> <p>CDR2: YTSILQS [SEQ ID NO:113]</p> <p>CDR3: QQGSSLPWT [SEQ ID NO:114]</p>
12C9.E5	<p>EVQLQESGAELVRPGASVKLS CKASGYIFTDYEIHVKQTPV HGLEWIGAI DPETGITAYSQKF KGKATLTTDTSSSTAYMEFRS LTSEDSAVYYCTRGGLLYWG QGTSVTVSS [SEQ ID NO:115]</p> <p>CDR1: GYIFTDY [SEQ ID NO:117]</p> <p>CDR2: DPETGI [SEQ ID NO:118]</p> <p>CDR3: GGLLY [SEQ ID NO:119]</p>	<p>DVVMТQTPLSLSVTIGQPASISCK SSQSLLYSDGETYLNWLQQRPG QSPKRLMYQVSKLDPGIPDRFSG SGSETDFTLKISRVEAEDLGIYYC LQGTYPHTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:116]</p> <p>CDR1: KSSQSLLYSDGETYLN [SEQ ID NO:120]</p> <p>CDR2: QVSKLDP [SEQ ID NO:121]</p> <p>CDR3: LQGTYPHT [SEQ ID NO:122]</p>
1A2.A3	<p>EVQLQESGPEVKPGASVKISC KASGYSFTGYIHWKQSPEE SLEWIGEIYPNTGITTYNQKFT AKATLTVDKSSNTAYMQLKS LTSEDSAVYYCTRWGDYYGR DYWGQGTSTVTVSS [SEQ ID NO:123]</p> <p>CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87]</p> <p>CDR2: YPNTGI [SEQ ID NO:98]</p> <p>CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]</p>	<p>DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASETVDTHGNSFMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNL ESGIPARFSGS GSRTDFTLTINPVEADDVATYYC QQSNEDPRTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:124]</p> <p>CDR1: RASETVDTHGNSFMH [SEQ ID NO:106]</p> <p>CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92]</p> <p>CDR3: QQSNEDPRT [SEQ ID NO:93]</p>
4H2.E3	<p>EVQLQESGPEVKPGASVKMSC KASGYTFTSYLMHWMKQKPG QGLEWIGYINPYS DGIKYNEK FRDKATLTS DKSSNTAYMELS</p>	<p>GIVMTQTTPSVPVTPGESVSISCR SSKSLLSNGNTYLYWFLQRPGQ SPQLLIYRMSNLASGV PDRFSGS GSGTFTLRISRVEAEDVGVYYC MQHLEYPFTFGSGTKLEIK</p>

Клон	VH	VL
	SLTSEDSAVYYCAHSSGYVGY AMDYWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:125] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: NPYSDG [SEQ ID NO:33] CDR3: SSGYVGYAMDY [SEQ ID NO:127]	[SEQ ID NO:126] CDR1: RSSKSLLSNGNTYLY [SEQ ID NO:128] CDR2: RMSNLAS [SEQ ID NO:129] CDR3: MQHLEYPFT [SEQ ID NO:130]
14H8.E7	EVQLQESGAELVKPGASVKLS CKASGYTFTNYWINWLKQRP GQGLEWIGNIYPGSTIINYNEK FKNKATLTVDTSSSTAYMQLS SLTSDSAVYYCARRVVLYF DSWGQGTTLTVSS [SEQ ID NO:131] CDR1: GYTFTNY [SEQ ID NO:132] CDR2: YPGSTI [SEQ ID NO:133] CDR3: RVVYLYFDS [SEQ ID NO:134]	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTC SASSSVSYMHWYQQKSGTSPKR WIFDTSKLASGVPVRFSGSGSGT SYSLTITNMETEDAATYYCQQW SSKSPTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:83] CDR1: SASSSVSYMH [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWSSKSPT [SEQ ID NO:46]

[0066] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) антитела, который включает аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%), идентичную VH антитела, раскрытого в таблице 1, и переменный домен легкой цепи антитела (VL), содержащий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную VH того же антитела, раскрытого в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит CDR1, CDR2 тяжелой цепи, и CDR3 и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, определенные по Kabat (см. Kabat et al, (1991))

Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242, Bethesda), Chothia (см, например, Chothia C & Lesk A M, (1987), J Mol Biol 196: 901-917), MacCallum (см. MacCallum R M et al, (1996) J Mol Biol 262: 732-745), или любым другим способом определения CDR, известным в данной области техники, VH- и VL-последовательностей антитела, раскрытого в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, раскрытого в таблице 1.

[0067] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 12H10.G7. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:1, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (а) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно.

[0068] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB87 или GB95. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере

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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 3 или 12.

[0069] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB88 или GB96. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 15 или 16.

[0070] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB89 или GB97. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах

осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 19 или 20.

[0071] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB90 и GB98. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%), идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по

меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 23 или 24.

[0072] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB91 и GB99. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%), идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (а) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 27 или 28.

[0073] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB92 или GB100. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению

содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%), идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:30. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 31 или 32.

[0074] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB93 или GB101. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотная последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:34. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 35 или 36.

[0075] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB94 или GB102. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности,

представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, при этом scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 39 или 40.

[0076] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB102 D101E. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок

представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 43 или 44.

[0077] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB102 M34I. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:45, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (а) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 47 или 48.

[0078] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к GB102 M34I/D101E. Например, в некоторых

вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 49, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 50, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 50, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 51 или 52.

[0079] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к гуманизованному 12H10.G7. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:53, и

VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 55, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 55, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно.

[0080] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к гуманизованному 12H10.G7. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:56, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:57. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и (b) VL, который содержит

CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно.

[0081] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к гуманизованному 12H10.G7. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:58, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 55, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, 4 и 55, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно.

[0082] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 14A5.E8. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:60, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:61. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 63 и 64, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 63 и 64, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 67, соответственно.

[0083] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к mAb 1551 или 1552. Например, в некоторых вариантах антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%), идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:68, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:69. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 63 и 64, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 63 и 64, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий

участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 70 или 71.

[0084] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к mAb 1553 или 1554. Например, в некоторых вариантах антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:72, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:73. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 63 и 64, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 63 и 64, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 74 или 75.

[0085] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к mAb 1689. Например, в некоторых вариантах

антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:76, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:77. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 78, 63 и 79, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 80, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (а) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 78, 63 и 79 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 80, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO: 81 или 82.

[0086] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к гуманизованному 14A5.E8. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:29, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%

(например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:84. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 59, 63 и 54, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 86, 66 и 67, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 59, 63 и 54, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 86, 66 и 67, соответственно.

[0087] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 11F4.B9. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:90. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 88 и 89, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 91, 92 и 93, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 88 и 89, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3,

содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 91, 92 и 93, соответственно.

[0088] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к гуманизованному 11F4.B9. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:14, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:94. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 88 и 89, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 91, 92 и 93, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 88 и 89, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 91, 92 и 93, соответственно.

[0089] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 4A4.A3. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:95, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере

мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:96. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 97, 99 и 100, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 101, 102 и 103, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 97, 99 и 100, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 101, 102 и 103, соответственно.

[0090] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 4A4.H7. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:104, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:105. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 98 и 89, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 106, 92 и 93, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 98 и 89, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 106, 92 и 93, соответственно.

[0091] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 15A11.C8. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%), идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:107, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:108. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 109, 110 и 111, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 112, 113 и 114, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 109, 110 и 111, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 112, 113 и 114, соответственно.

[0092] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 12C9.E5. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID

NO:116. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 117, 118 и 119, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 120, 121 и 122, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 117, 118 и 119, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 120, 121 и 122, соответственно.

[0093] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 1A2.A3. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:123, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:124. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 98, 89, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 106, 92, 93, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 87, 98, 89, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 106, 92, 93, соответственно.

[0094] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 4H2.E3. Например, в некоторых вариантах

осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:125, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 33 и 127, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 128, 129 и 130, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (а) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 62, 33 и 127, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 128, 129 и 130, соответственно.

[0095] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению относится к 14H8.E7. Например, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:131, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:83. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 132,

133 и 134, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 46, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (а) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 132, 133 и 134, соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 65, 66 и 46, соответственно.

[0096] В каждом приведенных выше вариантов осуществления в настоящем документе предполагается, что последовательности VH и/или VL, которые вместе связывают FLT3, могут содержать изменения аминокислот (например, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или 10 замен аминокислот, делеций или добавлений) в каркасных областях VH и/или VL без существенного влияния на их способность связываться с FLT3.

[0097] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению связывает FLT3 (например, FLT3 человека) с K_D (т.е. константой диссоциации), равной 1 нМ или ниже, 5 нМ или ниже, или 10 нМ или ниже, 15 нМ или ниже, или 20 нМ или ниже, как измерено с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, с использованием способа, описанного в примере 1 ниже), или с помощью биослойной интерферометрии (bio-layer interferometry (BLI)), и/или связывает FLT3 жидкости организма, ткани и/или клетки субъекта. В некоторых вариантах осуществления любое из вышеупомянутых выделенных антител имеет K_d (т.е. скорость диссоциации, также называемую K_{off}), равную или меньше, чем 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 5×10^{-3} , 0,01, 0,02 или 0,05 1/с, как измерено с помощью SPR (например, с использованием способа, описанного в примере 1 ниже) или с помощью BLI.

[0098] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению, например, антигенсвязывающий участок, относящийся к 12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I/D101E, или гуманизованному 12H10.G7, описанный выше, связывает вариант FLT3 человека, имеющий мутацию T227M, или его внеклеточную область. Аминокислотная последовательность внеклеточной области hFLT3-T227M представляет собой NQDLPVIKCVLINHKNNSSVVGKSSSYPMVSESPEDLGCALRPQSSGTVYEAAAVEV DVASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGE

YLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLC
DSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGMDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTL
PQLFLKVGEPWLWIRCKAVHVNHGFGLTWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF
AFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSDYEIDQYEEFCFSVRF
KAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKM
FTLNIRRKPVLAEASASQASCFSYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKA
NRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS
(SEQ ID NO: 25).

[0099] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению, например, антигенсвязывающий участок, относящийся к 12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I/D101E, или гуманизованному 12H10.G7, описанный выше, связывает вариант FLT3 человека, имеющий мутацию ITD, или его внеклеточную область. Аминокислотная последовательность внеклеточной области hFLT3-ITD представляет собой NQDLPVIKCVLINHKNNDSVVGKSSSYPMVSESPEDLGCALRPQSSGTVYEAAAVEV DVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGE YLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLC DSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTL PQLFLKVGEPWLWIRCKAVHVNHGFGLTWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF AFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSDYEIDQYEEFCFSVRF KAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKM FTLNIRRKPVLAEASASQASCFSYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKA NRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS (SEQ ID NO: 18).

[0100] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению, например, антигенсвязывающий участок, относящийся к 12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I/D101E, гуманизованному 12H10.G7, 14A5.E8, 1551, 1552, 1553, 1554, 1689, гуманизованному 14A5.E8, 11F4.B9, 4A4.A3, 4A4.H7, 15A11.C8, 1A2.A3, 4H2.E3 или 14H8.E7, описанный выше, связывает FLT3 яванского макака.

[0101] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению, например, антигенсвязывающий участок, относящийся к

12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I/D101E, гуманизированному 12H10.G7, 14A5.E8, 1551, 1552, 1553, 1554, 1689, гуманизированному 14A5.E8, 11F4.B9, 4A4.A3, 4A4.H7, 12C9.E5, 1A2.A3, 4H2.E3 или 14H8.E7, описанный выше, не конкурируют с FLT3L за связывание FLT3.

[0102] В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает антигенсвязывающий участок, который конкурирует за связывание с FLT3 (например, FLT3 человека, FLT3 яванского макака) с антигенсвязывающим участком, описанным выше. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению конкурирует с антигенсвязывающим участком, относящимся к 1A2.A3, раскрытым выше, за связывание с FLT3. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с 1A2.A3 за связывание с FLT3. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению конкурирует с антигенсвязывающим участком, относящимся к 4A4.A3, раскрытым выше, за связывание с FLT3. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с 4A4.A3 за связывание с FLT3. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению конкурирует с антигенсвязывающим участком, относящимся к 4H2.E3, описанным выше, за связывание с FLT3. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с 4H2.E3 за связывание с FLT3. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящему изобретению конкурирует с антигенсвязывающим участком, относящимся к 11F4.B9, описанным выше, за связывание с FLT3. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с 11F4.B9 за связывание с FLT3.

Белки с антигенсвязывающими сайтами

[0103] Описанный в настоящем документе антигенсвязывающий участок может присутствовать в антителе или его антигенсвязывающем фрагменте. Антитело может представлять собой моноклональное антитело, химерное антитело, диатело, Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент, Fv, биспецифическое антитело, биспецифический Fab₂, биспецифическое (mab)₂, гуманизированное антитело, искусственно созданное человеческое антитело, биспецифический активатор Т-клеток, биспецифический активатор NK-клеток, одноцепочечное антитело (например, одноцепочечный Fv-фрагмент или scFv), триомаб, IgG типа «выступ-во-впадину»

(knobs-into-holes (kih)) с общей легкой цепью, кроссмаб, орто-Fab IgG, DVD-Ig, 2 в 1-IgG, IgG-scFv, sdFv2-Fc, би-наноантитело, tandAb, антитело с двойной аффинностью перенацеливания (DART), DART-Fc, scFv-HSA-scFv (где HSA = сывороточный альбумин человека) или dock-and-lock (DNL)-Fab3.

[0104] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, раскрытый в настоящем документе, связан с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 90% (например, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной константной области антитела, например, константным областям тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE; в частности, выбранным, например, из константных областей тяжелой цепи (например, человека) IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. В другом варианте осуществления антигенсвязывающий участок, раскрытый в настоящем документе, может быть связан с константной областью легкой цепи, выбранной, например, из константных областей легкой цепи (например, человека) каппа или лямбда. Константная область может быть изменена, например, мутирована, для модификации свойств антитела (например, для увеличения или уменьшения одного или нескольких из: связывания Fc-рецептора, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, функции эффекторной клетки и/или функция дополнения). В одном варианте осуществления антитело обладает эффекторной функцией и может фиксировать комплемент. В других вариантах осуществления антитело не рекрутирует эффекторные клетки и не фиксирует комплемент. В другом варианте осуществления антитело имеет сниженную способность связываться с рецептором Fc или не имеет ее вовсе. Например, это изотип или подтип, фрагмент или другой мутант, который не поддерживает связывание с Fc-рецептором, например, он имеет мутагенизированную или делетированную область связывания с Fc-рецептором.

[0105] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связан с константной областью IgG, включая шарнирный домен, домены CH2 и CH3 с доменом CH1 или без него. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность константной области по меньшей мере на 90% (например, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100%) идентична константной области антитела человека, такой как константная область человеческого IgG1, константная область человеческого IgG2, константная область человеческого IgG3 или константная область человеческого IgG4. В одном варианте осуществления Fc-домен антитела или его часть, достаточная для связывания CD16, содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную последовательности Fc человеческого IgG1 дикого типа

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAAGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG

(SEQ ID NO: 21). В некоторых других вариантах осуществления аминокислотная последовательность константной области по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентична константной области антитела другого млекопитающего, такого как кролик, собака, кошка, мышь или лошадь. Одна или несколько мутаций могут быть включены в константную область по сравнению с константной областью IgG1 человека, например, в Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и/или K439. Примеры замен включают, например, Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, T350V, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, S357W, S360E, Q3660E, Q3660E, S364E, S364H, S364D, T366V, T366i, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, T394W, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D и K439E.

[0106] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связан с частью Fc-домена антитела, достаточной для связывания CD16. В Fc-домене связывание CD16 опосредуется шарнирной областью и доменом CH2. Например, в IgG1 человека взаимодействие с CD16 в первую очередь сосредоточено на аминокислотных остатках Asp 265 — Glu 269, Asn 297 — Thr 299, Ala 327 — Ile 332, Leu 234 — Ser 239 и углеводном остатке N-ацетил-D-глюкозамин в домене CH2 (см. *Sondermann et al*, *Nature*, 406 (6793):267-273). На основе известных доменов можно выбрать мутации для усиления или снижения аффинности связывания с CD16, например, с помощью фаговых библиотек или библиотек кДНК, отображаемых на поверхности дрожжей, или их можно разработать на основе известной трехмерной структуры взаимодействия.

[0107] В некоторых вариантах осуществления мутации, которые могут быть включены в СН1 константной области IgG1 человека, могут быть связаны с аминокислотой V125, F126, P127, T135, T139, A140, F170, P171 и/или V173. В некоторых вариантах осуществления мутации, которые могут быть включены в Ск константной области IgG1 человека, могут быть связаны с аминокислотой E123, F116, S176, V163, S174 и/или T164.

[0108] В некоторых вариантах осуществления константный домен антитела содержит домен СН2 и домен СН3 антитела IgG, например, антитела IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления в константный домен антитела вводят мутации для обеспечения гетеродимеризации с другим константным доменом антитела. Например, если константный домен антитела получен из константного домена IgG1 человека, константный домен антитела может содержать аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотам 234-332 человеческого антитела IgG1, и отличается в одном или нескольких положениях, выбранных из группы, состоящей из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439. Все положения аминокислот в Fc-домене или шарнирной области, описанные в настоящем документе, пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС.

[0109] Для облегчения образования асимметричного белка предполагается гетеродимеризация домена Fc. Мутации (например, аминокислотные замены) в домене Fc, которые способствуют гетеродимеризации, описаны, например, в публикации международной заявки № WO 2019157366, которая не включена в настоящий документ посредством ссылки.

[0110] Белки, описанные выше, могут быть получены с использованием технологии рекомбинантной ДНК, хорошо известной специалисту в данной области техники. Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая первую тяжелую цепь иммуноглобулина, может быть клонирована в первый вектор экспрессии; вторая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вторую тяжелую цепь иммуноглобулина, может быть клонирована во второй вектор экспрессии; третья последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая первую легкую цепь иммуноглобулина, может быть клонирована в третий вектор экспрессии; четвертая

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вторую легкую цепь иммуноглобулина, может быть клонирована в четвертый вектор экспрессии; первый, второй, третий и четвертый векторы экспрессии могут стабильно трансфицироваться вместе в клетки-хозяева с получением мультимерных белков.

[0111] Для достижения максимального выхода белков можно исследовать различные соотношения первого, второго, третьего и четвертого векторов экспрессии, чтобы определить оптимальное соотношение для трансфекции в клетки-хозяева. После трансфекции отдельные клоны могут быть выделены для создания банка клеток с использованием способов, известных в данной области техники, таких как ограниченное разведение, ELISA, FACS, микроскопия или Clonепix.

[0112] Клоны можно культивировать в условиях, подходящих для масштабирования биореактора и поддержания экспрессии белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящем документе. Белок можно выделить и очистить с использованием способов, известных в данной области техники, включая центрифугирование, глубинную фильтрацию, лизис клеток, гомогенизацию, замораживание-оттаивание, аффинную очистку, гель-фильтрацию, ионообменную хроматографию, гидрофобную обменную хроматографию и смешанную хроматографию.

[0113] Соответственно, в другом аспекте настоящее изобретение относится к одной или более выделенным нуклеиновым кислотам, содержащим последовательности, кодирующие переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина и/или легкой цепи иммуноглобулина любого из вышеуказанных антител. Изобретение относится к одному или более экспрессионным векторам, которые экспрессируют переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина и/или легкой цепи иммуноглобулина любого из вышеуказанных антител. Подобным образом, изобретение относится к клеткам-хозяевам, содержащим один или несколько из указанных выше векторов экспрессии и/или выделенные нуклеиновые кислоты.

[0114] В некоторых вариантах осуществления антитело связывает FLT3 с K_D , равной 20 нМ, 15 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, 1 нМ или ниже, как измерено с использованием стандартных анализов связывания, например, поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает EBV3 из жидкости организма, ткани и/или клетки субъекта.

[0115] В данной области техники известны конкурентные анализы для определения того, связывается ли антитело с тем же эпитопом, что и раскрытое антитело, или конкурирует ли оно за связывание с ним. Примеры анализов конкуренции включают иммунологические анализы (например, анализы ELISA, анализы RIA), поверхностный плазмонный резонанс (например, анализ BIAcore), интерферометрию биослоя и проточную цитометрию.

[0116] Как правило, конкурентный анализ включает использование антигена (например, человеческого белка FLT3 или его фрагмента), связанного с твердой поверхностью или экспрессируемого на клеточной поверхности, тестируемого FLT3-связывающего антитела и эталонного антитела. Эталонное антитело помечено, и тестируемое антитело не помечено. Конкурентное ингибирование измеряют путем определения количества меченого эталонного антитела, связанного с твердой поверхностью или клетками в присутствии тестируемого антитела. Обычно тестируемое антитело присутствует в избытке (например, в 1х, 5х, 10х, 20х или 100х). Антитела, идентифицированные с помощью конкурентного анализа (например, конкурирующие антитела), включают антитела, связывающиеся с тем же эпитопом или сходными (например, перекрывающимися) эпитопами, что и эталонное антитело, и антитела, связывающиеся с соседним эпитопом, достаточно проксимальным по отношению к эпитопу, связанному эталонным антителом, для возникновения стерических затруднений.

[0117] Конкурентный анализ можно проводить в обоих направлениях, чтобы убедиться, что присутствие метки не препятствует или иным образом не ингибирует связывание. Например, в первом направлении эталонное антитело меченое и тестируемое антитело немеченое, и во втором направлении тестируемое антитело меченое и эталонное антитело немеченое.

[0118] Тестируемое антитело конкурирует с эталонным антителом за специфическое связывание с антигеном, если избыток одного антитела (например, 1х, 5х, 10х, 20х или 100х) ингибирует связывание другого антитела, например, по меньшей мере на 50%, 75%, 90%, 95% или 99%, как измерено в анализе конкурентного связывания.

[0119] Можно определить, что два антитела связываются с одним и тем же эпитопом, если практически все аминокислотные мутации в антигене, которые уменьшают или исключают связывание одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого. Можно определить, что два антитела связываются с перекрывающимися эпитопами, если только подмножество аминокислотных мутаций, которые уменьшают

или устраняют связывание одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого.

[0120] Антитела, раскрытые в настоящем документе, могут быть дополнительно оптимизированы (например, с созревшей аффинностью) для улучшения биохимических характеристик, включая аффинность и/или специфичность, улучшения биофизических свойств, включая агрегацию, стабильность, преципитацию и/или неспецифические взаимодействия, и/или для снижения иммуногенности. Процедуры созревания аффинности доступны обычным специалистам в данной области техники. Например, разнообразие может быть введено в тяжелую цепь иммуноглобулина и/или легкую цепь иммуноглобулина путем перетасовки ДНК, перетасовки цепей, перетасовки CDR, случайного мутагенеза и/или сайт-специфического мутагенеза.

[0121] В некоторых вариантах осуществления выделенные человеческие антитела содержат одну или несколько соматических мутаций. В таких случаях антитела могут быть модифицированы до последовательности зародышевой линии человека для оптимизации антитела (например, с помощью процесса, называемого зародышевой линией).

[0122] Как правило, оптимизированное антитело имеет, по меньшей мере, такое же или практически такое же сродство к антигену, как и неоптимизированное (или исходное) антитело, из которого оно получено. Предпочтительно оптимизированное антитело имеет более высокую аффинность к антигену по сравнению с исходным антителом.

[0123] Если антитело предназначено для использования в качестве терапевтического средства, оно может быть конъюгировано с эффекторным агентом, таким как низкомолекулярный токсин или радионуклид, с использованием стандартных химических способов конъюгации *in vitro*. Если эффекторный агент представляет собой полипептид, антитело может быть химически конъюгировано с эффектором или присоединено к эффектору в виде слитого белка. Конструирование слитых белков находится в рамках обычных навыков в данной области техники.

[0124] Антитело может быть конъюгировано с эффекторным фрагментом, таким как низкомолекулярный токсин или радионуклид, с использованием стандартных химических способов конъюгации *in vitro*. Если эффекторная часть представляет собой полипептид, антитело может быть химически конъюгировано с эффектором или присоединено к эффектору в виде слитого белка. Конструирование слитых белков находится в рамках обычных навыков в данной области техники.

[0125] В некоторых вариантах осуществления белок (например, антитело) по настоящему изобретению практически не интернализуется клеткой, экспрессирующей FLT3. Низкий уровень интернализации может улучшить фармакокинетику белка, тем самым снижая дозу, необходимую для взаимодействия клеток-мишеней, экспрессирующих FLT3, с эффекторными клетками (например, НК-клетками). Интернализация может быть измерена любым способом, известным в данной области техники, например, способами, описанными в примере 7 настоящего изобретения. Например, в некоторых вариантах осуществления интернализация белка клетками RОН или EOL-1 составляет менее 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% после двухчасовой инкубации, как оценивали описанными в настоящем документе способами.

CAR T-клетки, FLT3/CD3-направленные биспецифические T-клеточные активаторы, иммуноцитокины, конъюгаты антитело-лекарственное средство и иммунотоксины

[0126] Другой аспект настоящего изобретения относится к молекуле или комплексу, содержащему антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, как описано в настоящем документе. Типичные молекулы или комплексы включают, но не ограничиваются ими, химерные антигенные рецепторы (CAR), активаторы T-клеток (например, FLT3/CD3-направленные биспецифические активаторы T-клеток), иммуноцитокины, конъюгаты антитело-лекарственное средство и иммунотоксины.

[0127] Можно использовать любой антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления VH-, VL- и/или CDR-последовательности антигенсвязывающего участка, который связывает FLT3, представлены в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, представляет собой scFv. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, выбранную из

SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82.

[0128] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и переменный домен легкой цепи, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит переменный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37; и переменный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит scFv, содержащий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:40 или SEQ ID NO:39.

Химерные антигенные рецепторы (CAR)

[0129] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к CAR, нацеленному на FLT3, содержащему антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, как описано в настоящем документе (см, например, таблицу 1). CAR, нацеленный на FLT3, может содержать Fab-фрагмент или scFv.

[0130] Термин «химерный антигенный рецептор» или, альтернативно, «CAR (chimeric antigen receptor)» относится к рекомбинантной полипептидной конструкции, содержащей, по меньшей мере, внеклеточный антигенсвязывающий домен,

трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы (также называемой в настоящем документе как «первичный сигнальный домен»).

[0131] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления CAR содержит внеклеточный антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, как описано в настоящем документе, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий первичный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления CAR дополнительно содержит один или несколько функциональных сигнальных доменов, полученных из по меньшей мере одной костимулирующей молекулы (также называемой «костимулирующим сигнальным доменом»).

[0132] В одном варианте осуществления CAR содержит химерный слитый белок, содержащий FLT3-связывающий домен (например, FLT3-связывающий домен scFv), содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена легкой цепи, перечисленные в таблице 1 как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий первичный сигнальный домен. В одном варианте осуществления CAR содержит химерный слитый белок, содержащий FLT3-связывающий домен (например, FLT3-связывающий домен scFv), содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена легкой цепи, перечисленные в таблице 1 как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий костимулирующий сигнальный домен и первичный сигнальный домен. В одном аспекте CAR содержит химерный слитый белок, содержащий FLT3-связывающий домен (например, FLT3-связывающий домен scFv), содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена легкой цепи, перечисленные в таблице 1 как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий два костимулирующих сигнальных домена и первичный сигнальный домен. В одном варианте осуществления CAR содержит химерный слитый белок, содержащий FLT3-связывающий домен, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена легкой цепи, перечисленные в таблице 1 как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий по

меньшей мере два костимуляторных сигнальных домена и первичный сигнальный домен.

[0133] Например, в некоторых вариантах осуществления внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит антигенсвязывающий участок (например, scFv), содержащий переменный домен тяжелой цепи, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 11, 4 и 5, соответственно; и переменный домен легкой цепи, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит переменный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37; и переменный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит scFv, содержащий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную SEQ ID NO:40 или SEQ ID NO:39.

[0134] Что касается трансмембранного домена, то в различных вариантах осуществления CAR содержит трансмембранный домен, слитый с внеклеточным доменом CAR. В одном варианте осуществления трансмембранный домен представляет собой домен, который естественным образом связан с одним доменом в CAR. В некоторых случаях трансмембранный домен можно выбрать или модифицировать путем аминокислотной замены, чтобы избежать связывания таких доменов с трансмембранными доменами того же или различных белков поверхностной мембраны, чтобы свести к минимуму взаимодействия с другими членами рецепторного комплекса.

В другом варианте осуществления трансмембранный домен способен к гомодимеризации с другим CAR на поверхности CAR Т-клетки. В другом варианте осуществления аминокислотная последовательность трансмембранного домена может быть модифицирована или заменена таким образом, чтобы свести к минимуму взаимодействия со связывающими доменами нативного связывающего партнера, присутствующего в той же CAR Т-клетке.

[0135] Трансмембранный домен может быть получен из любого встречающегося в природе связанного с мембраной или трансмембранного белка. В одном варианте осуществления трансмембранная область способна передавать сигнал внутриклеточному(ым) домену(ам) всякий раз, когда CAR связывается с мишенью. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен содержит трансмембранную(ые) область(и) одного или нескольких белков, выбранных из группы, состоящей из α -цепи TCR, β -цепи TCR, ζ -цепи TCR, CD28, CD3 ϵ , CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, FLT3, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 и CD154. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен содержит трансмембранную(ые) область(и) одного или нескольких белков, выбранных из группы, состоящей из KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R β , IL2R γ , IL7R α , ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (тактильный), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/ Cbp, NKG2D и NKG2C.

[0136] Домен внеклеточного FLT3-связывающего домена (например, FLT3-связывающий домен scFv) может быть соединен с трансмембранным доменом посредством шарнирной области. Можно использовать множество шарниров, включая, но не ограничиваясь ими, шарнир человеческого Ig (иммуноглобулина) (например, шарнир IgG4, шарнир IgD), линкер Gly-Ser, линкер (G₄S)₄, шарнир KIR2DS2 и шарнир CD8 α .

[0137] Внутриклеточный сигнальный домен CAR по настоящему изобретению отвечает за активацию по меньшей мере одной из специализированных функций иммунной клетки (например, цитолитической активности или хелперной активности,

включая секрецию цитокинов, Т-клетки), при которой CAR был помещен внутрь. Таким образом, используемый в настоящем документе термин «внутриклеточный сигнальный домен» относится к части белка, которая передает сигнал эффекторной функции и направляет клетку на выполнение специализированной функции. Хотя обычно можно использовать весь внутриклеточный сигнальный домен, во многих случаях нет необходимости использовать всю цепь. В той мере, в какой используется укороченная часть внутриклеточного сигнального домена, такую укороченную часть можно использовать вместо интактной цепи, если она передает сигнал эффекторной функции. Таким образом, подразумевается, что термин внутриклеточный сигнальный домен включает любую укороченную часть внутриклеточного сигнального домена, достаточную для передачи сигнала эффекторной функции.

[0138] Внутриклеточный сигнальный домен CAR содержит первичный сигнальный домен (т.е. функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы) и один или несколько костимулирующих сигнальных доменов (т.е. функциональный сигнальный домен, полученный по меньшей мере из одной костимулирующей молекулы).

[0139] Используемый в настоящем документе термин «стимулирующая молекула» относится к молекуле, экспрессируемой иммунной клеткой, например, Т-клеткой, НК-клеткой или В-клеткой, которая обеспечивает цитоплазматическую сигнальную последовательность(и), регулирующую активацию иммунной клетки стимулирующим образом, по меньшей мере, для некоторых аспектов сигнального пути иммунных клеток. В одном варианте осуществления сигнал представляет собой первичный сигнал, который инициируется, например, связыванием комплекса TCR/CD3 с молекулой МНС, нагруженной пептидом, и который приводит к опосредованию Т-клеточного ответа, включая, но не ограничиваясь этим, к пролиферации, активации, дифференцировке и тому подобное.

[0140] Первичные сигнальные домены, которые действуют стимулирующим образом, могут содержать сигнальные мотивы, известные как мотивы активации иммунорецептора на основе тирозина или ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif). Примеры ITAM, содержащих цитоплазматические сигнальные последовательности, которые особенно применимы в настоящем изобретении, включают последовательности, происходящие от CD3 дзета, общего FcR гамма (FCER1G), Fc гамма RIIa, FcR бета (Fc эпсилон R1b), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12. В одном варианте осуществления первичный

сигнальный домен в любом одном или нескольких CAR по настоящему изобретению содержит цитоплазматическую сигнальную последовательность, полученную CD3-дзета.

[0141] В некоторых вариантах осуществления изобретения первичный сигнальный домен представляет собой функциональный сигнальный домен TCR дзета, FcR гамма, FcR бета, CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD66d, 4-1BB и/или CD3-дзета. В одном варианте осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит функциональный сигнальный домен CD3 дзета, общий FcR гамма (FCER1G), Fc гамма RIIa, FcR бета (Fc эпсилон R1b), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и/или DAP12. В конкретном варианте осуществления первичный сигнальный домен представляет собой функциональный сигнальный домен дзета-цепи, связанный с комплексом T-клеточного рецептора.

[0142] Используемый в настоящем документе термин «костимулирующая молекула» относится к родственному партнеру по связыванию на T-клетке, который специфически связывается с костимулирующим лигандом, тем самым опосредуя костимулирующий ответ T-клетки, такой как, но не ограничиваясь этим, пролиферация. Костимуляторная молекула представляет собой молекулу клеточной поверхности, отличную от антигенного рецептора или его лигандов, которая необходима для эффективного ответа лимфоцитов на антиген. Примеры таких молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген-1, ассоциированный с функцией лимфоцитов (LFA-1, CD11a/CD18), CD2, CD7, CD258 (LIGHT), NKG2C, B7-H3 и лиганд, который специфически связывается с CD83, и тому подобное. Дополнительные примеры таких костимулирующих молекул включают CD5, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8альфа, CD8бета, IL2R бета, IL2R гамма, IL7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (тактильный), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/ Cbp и лиганд, который специфически связывается с CD83. В некоторых вариантах осуществления костимулирующий сигнальный домен CAR представляет собой функциональный сигнальный домен костимулирующей молекулы, описанной в

настоящем документе, например, OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, лиганд, который связывается с CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS и 4-1BB (CD137), или любой их комбинации.

[0143] Используемый в настоящем документе термин «сигнальный домен» относится к функциональной части белка, который действует путем передачи информации внутри клетки для регулирования клеточной активности через определенные сигнальные пути, генерируя вторичные мессенджеры или функционируя в качестве эффекторов, реагируя на такие мессенджеры.

[0144] Цитоплазматические сигнальные последовательности внутри цитоплазматической сигнальной части CAR по настоящему изобретению могут быть связаны друг с другом в случайном или заданном порядке. Необязательно, связь может образовывать короткий олиго- или полипептидный линкер, например, длиной от 2 до 10 аминокислот.

[0145] Другой аспект настоящего изобретения относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей CAR, нацеленный на FLT3, раскрытый в настоящем документе. Нуклеиновая кислота может использоваться для экспрессии CAR в эффекторной клетке (например, Т-клетке) путем введения нуклеиновой кислоты в клетку.

[0146] В последовательность могут быть внесены модификации для создания эквивалентного или улучшенного варианта настоящего изобретения, например, путем замены одного или нескольких кодонов в соответствии с таблицей вырождения кодонов. Таблица вырождения кодонов ДНК представлена в таблице 2.

Таблица 2. Кодоны аминокислот			
Аминокислоты	Однобук- венный код	Трехбук- венный код	Кодоны
Аланин	A	Ala	GCA GCC GCG GCU
Цистеин	C	Cys	UGC UGU
Аспарагиновая кислота	D	Asp	GAC GAU
Глютаминовая кислота	E	Glu	GAA GAG
Фенилаланин	F	Phe	UUC UUU
Глицин	G	Gly	GGA GGC GGG GGU
Гистидин	H	His	CAC CAU
Изолейцин	I	Iso	AUA AUC AUU
Лизин	K	Lys	AAA AAG
Лейцин	L	Leu	UUA UUG CUA CUC CUG CUU
Метионин	M	Met	AUG

Аспарагин	N	Asn	AAC AAU
Пролин	P	Pro	CCA CCC CCG CCU
Глютамин	Q	Gln	CAA CAG
Аргинин	R	Arg	AGA AGG CGA CGC CGG CGU
Серин	S	Ser	AGC AGU UCA UCC UCG UCU
Треонин	T	Thr	ACA ACC ACG ACU
Валин	V	Val	GUA GUC GUG GUU
Триптофан	W	Trp	UGG
Тирозин	Y	Tyr	UAC UAU

[0147] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой молекулу ДНК (например, молекулу кДНК). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит последовательность контроля экспрессии (например, промотор и/или энхансер), функционально связанную с последовательностью, кодирующей CAR. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к вектору, содержащему нуклеиновую кислоту. Вектор может быть вирусным вектором (например, вектором AAV, лентивирусным вектором или аденовирусным вектором) или невирусным вектором (например, плазмидой).

[0148] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой молекулу РНК (например, молекулу мРНК). Способ получения мРНК для использования в трансфекции может включать транскрипцию матрицы *in vitro* со специально разработанными праймерами с последующим добавлением полиА для получения конструкции РНК, содержащей 3'- и 5'-нетранслируемые последовательности, 5'-кэп и/или участок внутренней посадки (Internal Ribosome Entry Site (IRES)), экспрессируемую нуклеиновую кислоту и хвост полиА, обычно длиной от 50 до 2000 оснований. Молекула РНК может быть дополнительно модифицирована для повышения эффективности трансляции и/или стабильности, например, как описано в патентах США № 8,278,036; 8,883,506 и 8,716,465. Полученные таким образом молекулы РНК могут эффективно трансфицировать различные типы клеток.

[0149] В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность, содержащую сигнальный пептид на амино-конце CAR. Такой сигнальный пептид может способствовать локализации CAR на клеточной поверхности, когда он экспрессируется в эффекторной клетке, и отщепляется от CAR во время клеточного процессинга. В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность, содержащую сигнальный пептид на N-

конце внеклеточного FLT3-связывающего домена (например, FLT3-связывающего домена scFv).

[0150] РНК или ДНК могут быть введены в клетки-мишени с использованием любого ряда различных способов, например, коммерчески доступных способов, которые включают, но не ограничиваются ими, электропорацию, трансфекцию, опосредованную катионными липосомами, с использованием липофекции, полимерную инкапсуляцию, трансфекцию, опосредованную пептидами, или биолистические системы доставки частиц, такие как «генные пушки» (см, например, Nishikawa, et al. Hum Gene Ther, 12(8):861-70 (2001)).

[0151] Другой аспект настоящего изобретения относится к иммунной эффекторной клетке, экспрессирующей CAR, нацеленный на FLT3. Также обеспечена иммунная эффекторная клетка, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, нацеленный на FLT3. Иммунные эффекторные клетки включают, но не ограничиваются ими, Т-клетки и NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления Т-клетка выбрана из CD8⁺ Т-клетки, CD4⁺ Т-клетки и NKT-клетки. Т-клетка или NK-клетка может быть первичной клеткой или клеточной линией.

[0152] Иммунные эффекторные клетки могут быть получены из ряда источников, включая мононуклеарные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, ткань тимуса, ткань очага инфекции, асцит, плевральный выпот, ткань селезенки и опухоли, способами, известными в данной области техники. Иммунные эффекторные клетки также можно дифференцировать *in vitro* плюрипотентных или мультипотентных клеток (например, гемопоэтических стволовых клеток). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает плюрипотентную или мультипотентную клетку (например, гемопоэтическую стволовую клетку), экспрессирующую CAR, нацеленную на FLT3 (например, экспрессирующую CAR на плазматической мембране), или содержащую нуклеиновую кислоту, описанную в настоящем документе.

[0153] В некоторых вариантах осуществления иммунные эффекторные клетки выделяют и/или очищают. Например, регуляторные Т-клетки можно удалить из популяции Т-клеток с помощью CD25-связывающего лиганда. Эффекторные клетки, экспрессирующие белок контрольной точки (например, PD-1, LAG-3 или TIM-3), могут быть удалены аналогичными способами. В некоторых вариантах осуществления эффекторные клетки выделяют на стадии положительной селекции. Например, популяцию Т-клеток можно выделить путем инкубации с гранулами,

конъюгированными с анти-CD3/анти-CD28. Другие маркеры клеточной поверхности, такие как IFN- γ , TNF- α , IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, гранзим В и перфорин, могут также использоваться для положительного отбора.

[0154] Иммунные эффекторныe клетки могут быть активированы и размножены, как правило, с использованием способов, известных в данной области техники, например, как описано в патентах США №№ 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041; 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041; и в публикациях патентных заявок США № 2006/0121005 и 2016/0340406. Например, в некоторых вариантах осуществления Т-клетки могут размножаться и/или активироваться путем контакта с анти-CD3-антителом и анти-CD28-антителом в условиях, подходящих для стимуляции пролиферации Т-клеток. Клетки могут размножаться в культуре в течение периода от нескольких часов (например, около 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 18, 21 часа) до около 14 дней (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 дней). В одном варианте осуществления клетки размножаются в течение периода от 4 до 9 дней. Многократные циклы стимуляции могут быть желательны для длительного культивирования клеток (например, культивирование в течение 60 дней или более). В некоторых вариантах осуществления клеточная культура содержит сыворотку (например, эмбриональную бычью или человеческую сыворотку), интерлейкин-2 (IL-2), инсулин, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β , TNF- α или их комбинацию. Другие добавки для роста клеток, известные специалисту в данной области техники, например поверхностно-активное вещество, плазманат и восстанавливающие средства, такие как N-ацетилцистеин и 2-меркаптоэтанол, также могут быть включены в культуру клеток. В некоторых вариантах осуществления иммунная эффекторная клетка по настоящему изобретению представляет собой клетку, полученную в результате размножения *in vitro*.

[0155] Дополнительные варианты осуществления CAR, нацеленного на FLT3 (например, регулируемый CAR), нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR, и эффекторных клеток, экспрессирующих CAR или содержащих нуклеиновую кислоту, представлены в патентах США №№ 7,446,190 и 9,181,527, публикациях патентных заявок США №2016/0340406 и 2017/0049819, и публикации международной патентной заявки № WO2018/140725.

FLT3/CD3-направленные биспецифические Т-клеточные активаторы

[0156] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к FLT3/CD3-направленному биспецифическому активатору Т-клеток, содержащему антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, описанный в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления FLT3/CD3-направленный биспецифический активатор Т-клеток содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82. В некоторых вариантах осуществления цитокин связан с доменом Fc напрямую или через линкер.

[0157] В некоторых вариантах осуществления FLT3/CD3-направленный биспецифический активатор Т-клеток дополнительно содержит антигенсвязывающий участок, который связывает CD3. Примеры участков связывания антигена, которые связывают CD3, раскрыты в публикациях международных патентных заявок № WO 2014/051433 и WO 2017/097723.

[0158] Другой аспект настоящего изобретения относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей по меньшей мере один полипептид FLT3/CD3-направленного биспецифического активатора Т-клеток, где полипептид содержит антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, который при экспрессии находится на N-конце одного или нескольких полипептидов FLT3/CD3-направленного биспецифического активатора Т-клеток. Также обеспечен вектор (например, вирусный вектор), содержащий нуклеиновую кислоту, клетка-продуцент, содержащая нуклеиновую кислоту или вектор, и клетка-продуцент, экспрессирующая FLT3/CD3-направленный биспецифический активатор Т-клеток.

Иммуноцитокينات

[0159] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к иммуноцитокину, содержащему антигенсвязывающий участок, который связывает раскрытый в настоящем документе FLT3, и цитокин. Можно использовать любой

цитокин (например, провоспалительные цитокины), известный в данной области, включая, но не ограничиваясь ими, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF, IFN α , IFN γ и GM-CSF. Другие иллюстративные цитокины раскрыты в патенте США № 9,567,399. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок соединен с цитокином посредством химической конъюгации (например, ковалентной или нековалентной химической конъюгации). В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок соединен с цитокином путем слияния полипептида. Иммуноцитокин может дополнительно содержать Fc-домен, связанный с антигенсвязывающим участком, который связывает FLT3. В некоторых вариантах осуществления иммуноцитокин содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82. В некоторых вариантах осуществления цитокин связан с доменом Fc напрямую или через линкер.

[0160] Другой аспект настоящего изобретения относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей по меньшей мере один полипептид иммуноцитокина, где полипептид содержит антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, который при экспрессии находится на N-конце одного или нескольких полипептидов иммуноцитокина. Также обеспечен вектор (например, вирусный вектор), содержащий нуклеиновую кислоту, клетка-продуцент, содержащая нуклеиновую кислоту или вектор, и клетка-продуцент, экспрессирующая иммуноцитокин.

Конъюгаты антитело-лекарственное средство

[0161] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, содержащему антигенсвязывающий участок, который связывает описанный в настоящем документе FLT3, и молекулу цитотоксического лекарственного средства. Примеры молекул цитотоксического лекарственного средства раскрыты в публикациях международных патентных заявок № WO 2014/160160 и WO 2015/143382. В некоторых вариантах осуществления молекула

цитотоксического лекарственного средства выбрана из ауристатиона, N-ацетил-γ калихимицина, майтансиноида, пирролобензодиазепина и SN-38. Антигенсвязывающий участок может быть связан с молекулой цитотоксического лекарственного средства посредством химической конъюгации (например, ковалентной или нековалентной химической конъюгации). В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство дополнительно содержит домен Fc, соединенный с антигенсвязывающим участком, который связывает FLT3. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или на 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82. В некоторых вариантах осуществления молекула цитотоксического лекарственного средства связана с доменом Fc напрямую или через линкер.

Иммунотоксины

[0162] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к иммунотоксину, содержащему антигенсвязывающий участок, который связывает описанный в настоящем документе FLT3, и цитотоксический пептидный фрагмент. Можно использовать любую цитотоксический пептидный фрагмент, известный в данной области, включая, но не ограничиваясь ими, ризин, *Diphtheria* токсин и *Pseudomonas* экзотоксин А. Дополнительные примеры цитотоксических пептидов раскрыты в публикациях международных патентных заявок №№ WO2012/154530 и WO2014/164680. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический пептидный фрагмент соединен с белком путем химической конъюгации (например, ковалентной или нековалентной химической конъюгации). В некоторых вариантах осуществления часть цитотоксического пептида связана с белком путем слияния полипептида. Иммунотоксин может дополнительно содержать Fc-домен, связанный с антигенсвязывающим участком, который связывает FLT3. В некоторых вариантах осуществления иммунотоксин содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 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%, по меньшей мере на 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82. В некоторых вариантах осуществления фрагмент цитотоксического пептида соединен с доменом Fc напрямую или через линкер.

[0163] Другой аспект настоящего изобретения относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей по меньшей мере один полипептид иммунотоксина, при этом полипептид содержит антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, который при экспрессии находится на N-конце одного или нескольких полипептидов иммунотоксина. Также обеспечен вектор (например, вирусный вектор), содержащий нуклеиновую кислоту, клетка-продуцент, содержащая нуклеиновую кислоту или вектор, и клетка-продуцент, экспрессирующая иммунотоксин.

II. Терапевтические композиции и их применение

[0164] Настоящее изобретение относится к способам лечения рака с использованием белка, конъюгата или клеток, содержащих описанный в настоящем документе антигенсвязывающий участок, и/или фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе. Способы можно использовать для лечения различных видов рака, которые экспрессируют FLT3, путем введения пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества белка, конъюгата или клеток, содержащих антигенсвязывающий участок, описанный в настоящем документе.

[0165] Терапевтический способ можно охарактеризовать в зависимости от вида рака, подлежащего лечению. Например, в некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование или лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой острый миелоидный лейкоз (AML), острый лимфобластный лейкоз (ALL), миелодисплазию, миелодиспластические синдромы, острый T-лимфобластный лейкоз или острый промиелоцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз или миелоидный бластный криз хронического миелоидного лейкоза.

[0166] В некоторых вариантах осуществления AML представляет собой минимальное остаточное заболевание (minimal residual disease (MRD)). В некоторых

вариантах осуществления MRD характеризуется наличием или отсутствием мутации, выбранной из FLT3-ITD ((Fms-подобная тирозинкиназа 3)-внутренних tandemных дупликаций (ITD)), NPM1 (нуклеофозмин 1), DNMT3A (ген ДНК-метилтрансферазы DNMT3A) и IDH (изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (IDH1 и IDH2)). В некоторых вариантах осуществления MDS выбран из MDS с мультилинейной дисплазией (MDS-MLD), MDS с однолинейной дисплазией (MDS-SLD), MDS с кольцевыми сидеробластами (MDS-RS), MDS с избытком бластов (MDS-EB), MDS с изолированной del(5q) и неклассифицированный MDS (MDS-U). В некоторых вариантах осуществления MDS представляет собой первичный MDS или вторичный MDS.

[0167] В некоторых вариантах осуществления ALL выбран из В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (B-ALL) и Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL). В некоторых вариантах осуществления MRD выбран из истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии (essential thrombocythemia (ET)) и миелофиброза. В некоторых вариантах осуществления неходжкинская лимфома выбрана из В-клеточной лимфомы и Т-клеточной лимфомы. В некоторых вариантах осуществления лимфома выбрана из хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), лимфобластной лимфомы (ЛПЛ), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДВКЛ), лимфомы Беркитта (БЛ), первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ПМБЛ), фолликулярной лимфомы, лимфомы мантийных клеток, волосатоклеточного лейкоза, плазмноклеточной миеломы (ПКМ) или множественной миеломы (ММ), новообразований со зрелыми Т/НК и гистиоцитарных новообразований.

[0168] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В некоторых других вариантах осуществления рак представляет собой рак головного мозга, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия, рак пищевода, лейкоз, рак легких, рак печени, меланому, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак прямой кишки, рак почки, рак желудка, рак яичка или рак матки. В других вариантах осуществления рак представляет собой васкуляризированную опухоль, плоскоклеточную карциному, аденокарциному, мелкоклеточную карциному, меланому, глиому, нейробластому, саркому (например, ангиосаркому или хондросаркому), рак гортани, рак околоушной железы, рак желчных путей, рак щитовидной железы, акральнo-лентигинозную меланому, актинический кератоз, острый лимфолейкоз, острый миелоидный лейкоз, аденоидно-кистозную карциному, аденомы, аденосаркому, аденосквamousную карциному, рак анального канала, анальный рак, рак аноректума,

астроцитарную опухоль, карциному бартолиновой железы, базально-клеточную карциному, рак желчных путей, рак кости, рак костного мозга, рак бронхов, рак бронхиальной железы, карциноид, холангиокарциному, хондросаркому, папиллому/карциному сосудистого сплетения, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, светлоклеточный рак, рак соединительной ткани, цистаденому, рак пищеварительной системы, рак двенадцатиперстной кишки, рак эндокринной системы, опухоль эндодермального синуса, гиперплазию эндометрия, эндометриальную стромальную саркому, эндометриоидную аденокарциному, эндотелиально-клеточный рак, эпендимальный рак, эпителиально-клеточный рак, саркому Юинга, рак глаза и орбиты, рак женских половых органов, очаговую узловую гиперплазию, рак желчного пузыря, рак антрального отдела желудка, рак дна желудка, гастриному, глиобластому, глюкагоному, рак сердца, гемангиобластомы, гемангиоэндотелиому, гемангиомы, аденому печени, аденомутоз печени, гепатобилиарный рак, гепатоцеллюлярную карциному, болезнь Ходжкина, рак подвздошной кишки, инсулиному, интаэпителиальную неоплазию, межэпителиальную плоскоклеточную неоплазию, рак внутривенных желчных протоков, инвазивную плоскоклеточную карциному, рак тощей кишки, рак суставов, саркому Капоши, рак малого таза, крупноклеточную карциному, рак толстой кишки, лейомиосаркому, злокачественную меланому лентиго, лимфому, рак мужских половых органов, злокачественную меланому, злокачественные мезотелиальные опухоли, медуллобластому, медуллоэпителиому, рак мозговых оболочек, мезотелиальный рак, метастатическую карциному, рак ротовой полости, мукоэпидермоидный рак, множественную миелому, рак мышц, рак носового тракта, рак нервной системы, нейроэпителиальную аденокарциному, узловую меланому, неэпителиальный рак кожи, неходжкинскую лимфому, овсяноклеточный рак, олигодендроглиальный рак, рак полости рта, остеосаркому, папиллярно-серозную аденокарциному, рак полового члена, рак глотки, опухоли гипофиза, плазмоцитому, псевдосаркому, бластому легких, рак прямой кишки, почечно-клеточный рак, рак дыхательной системы, ретинобластому, рабдомиосаркому, саркому, серозный рак, рак пазухи, рак кожи, мелкоклеточный рак, рак тонкой кишки, гладкий рак мышц, рак мягких тканей, соматостатин-секретирующую опухоль, рак позвоночника, плоскоклеточный рак, рак поперечно-полосатой мускулатуры, субмезотелиальный рак, поверхностно-распространяющуюся меланому, Т-клеточный лейкоз, рак языка, недифференцированную карциному, рак мочеочника, рак уретры, рак мочевого пузыря, рак мочевыделительной системы, рак

шейки матки, рак тела матки, увеальную меланому, рак влагалища, веррукозную карциному, VIP-ому, рак вульвы, высокодифференцированную карциному или опухоль Вильмса.

[0169] В некоторых других вариантах осуществления рак представляет собой неходжкинскую лимфому, такую как В-клеточная лимфома или Т-клеточная лимфома. В некоторых вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой В-клеточную лимфому, такую как диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, фолликулярная лимфома, малая лимфоцитарная лимфома, мантийноклеточная лимфома, В-клеточная лимфома маргинальной зоны, экстранодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны, узловая В-клеточная лимфома маргинальной зоны, В-клеточная лимфома маргинальной зоны селезенки, лимфома Беркитта, лимфоцитоматозная лимфома, волосатоклеточный лейкоз или первичная лимфома центральной нервной системы (ЦНС). В некоторых других вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой Т-клеточную лимфому, такую как предшественница Т-лимфобластной лимфомы, периферическая Т-клеточная лимфома, кожная Т-клеточная лимфома, ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома, экстранодальная лимфома естественных киллеров/Т-клеток, Т-клеточная лимфома энтеропатического типа, подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома, анапластическая крупноклеточная лимфома или периферическая Т-клеточная лимфома.

[0170] Рак, подлежащий лечению, можно охарактеризовать по присутствию определенного антигена, экспрессируемого на поверхности раковой клетки. В некоторых вариантах осуществления раковая клетка может экспрессировать один или несколько следующих компонентов в дополнение к FLT3: CD2, CD19, CD20, CD30, CD38, CD40, CD52, CD70, EGFR/ERBB1, IGF1R, HER3/ERBB3, HER4/ERBB4, MUC1, TROP2, cMET, SLAMF7, PSCA, MICA, MICB, TRAILR1, TRAILR2, MAGE-A3, B7.1, B7.2, CTLA4 и PD1.

[0171] В вариантах осуществления настоящего изобретения подлежащий лечению рак выбран из острого миелоидного лейкоза (AML), миелодиспластического синдрома (MDS), острого лимфобластного лейкоза (ALL), миелопролиферативных новообразований (MPN), лимфомы, неходжкинских лимфом и классической лимфомы Ходжкина.

[0172] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подлежащий лечению, представляет собой AML. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения AML выбран из недифференцированного острого миелобластного лейкоза, острого миелобластного лейкоза с минимальным созреванием, острого миелобластного лейкоза с созреванием, острого промиелоцитарного лейкоза (APL), острого миеломоноцитарного лейкоза, острого миеломоноцитарного лейкоза с эозинофилией, острого моноцитарного лейкоза, острого эритроидного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза (AMKL), острого базофильного лейкоза, острого панмиелоза с фиброзом и бластной плазмацитоидной дендритноклеточной неоплазмы (BPDCN). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения AML характеризуется экспрессией CLL-1 на AML стволовых лейкозных стволовых клетках (leukemia stem cells (LSC)). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения LSC у субъекта с AML дополнительно экспрессируют мембранный маркер, выбранный из CD34, CD38, CD 123, TIM3, CD25, CD32 и CD96. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения AML характеризуется как минимальное остаточное заболевание (MRD). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения AML MRD характеризуется наличием или отсутствием мутации, выбранной из *FLT3-ITD* ((Fms-подобная тирозинкиназа 3)-внутренние тандемные дупликации (ITD)), *NPM1* (Нуклеофосмин 1), *DNMT3A* (ген ДНК-метилтрансферазы *DNMT3A*) и *IDH* (изоцитратдегидрогеназа 1 и 2 (IDH1 и IDH2)).

[0173] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой MDS, выбранный из MDS с мультилинейной дисплазией (MDS-MLD), MDS с однолинейной дисплазией (MDS-SLD), MDS с кольцевыми сидеробластами (MDS-RS), MDS с избытком бластов (MDS-EB), MDS с изолированной *del(5q)* и MDS неклассифицированный (MDS-U).

[0174] Предполагается, что белок, конъюгат, клетки и/или фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно применять для лечения различных видов рака, не ограничиваясь видами рака, при которых раковые клетки экспрессируют FLT3. Например, в некоторых вариантах осуществления белок, конъюгат, клетки и/или фармацевтические композиции, раскрытые в настоящем документе, можно применять для лечения рака, связанного с экспрессирующими FLT3 иммунными клетками. FLT3 экспрессируется во многих миелоидных клонах, и инфильтрирующие опухоль миелоидные клетки (например, ассоциированные с опухолью макрофаги) могут

способствовать прогрессированию рака и метастазированию. Таким образом, раскрытые в настоящем документе способы можно использовать для лечения различных видов рака, при которых экспрессируется FLT3, будь то на раковых клетках или на иммунных клетках.

III. Комбинированная терапия

[0175] Другой аспект настоящего изобретения относится к комбинированной терапии. Белки, конъюгаты и клетки, содержащие антигенсвязывающий участок, описанный в настоящем документе, можно использовать в сочетании с дополнительными терапевтическими средствами для лечения рака.

[0176] Типичные терапевтические средства, которые можно использовать как часть комбинированной терапии при лечении рака, включают, например, облучение, митомицин, третиноин, рибомустин, гемцитабин, винкристин, этопозид, кладрибин, митобронитол, метотрексат, доксорубицин, карбоквон, пентостатин, нитракрин, зиностатин, цетрореликс, летрозол, ралтитрексед, даунорубицин, фадрозол, фотемустин, тималфазин, собузоксан, недаплатин, цитарабин, бикалутамид, винорелбин, веснаринон, аминоклютетимид, амсакрин, проглумид, эллиптиниум ацетат, кетансерин, доксифлуридин, этретинат, изотретиноин, стрептозоцин, нимустин, виндезин, флутамид, дрогенил, бутоцин, кармофур, разоксан, сизофилан, карбоплатин, митолактол, тегафур, ифосфамид, преднимустин, пицибанил, левамизол, тениизол, эноксисуранид, импроксиметосульфанид, импрозол тамоксифен, прогестерон, мепитиостан, эпителиостанол, форместан, интерферон-альфа, интерферон-2 альфа, интерферон-бета, интерферон-гамма, колониестимулирующий фактор-1, колониестимулирующий фактор-2, денилейкин дифтитокс, интерлейкин-2, рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона и разновидности вышеупомянутых средств, которые могут проявлять дифференциальное связывание с родственным рецептором и увеличивать или уменьшать время полужизни в сыворотке.

[0177] Дополнительным классом средств, которые можно использовать как часть комбинированной терапии при лечении рака, являются ингибиторы иммунных контрольных точек. Примеры ингибиторов иммунных контрольных точек включают средства, которые ингибируют один или несколько (i) цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного антигена 4 (CTLA4), (ii) белка 1 запрограммированной гибели клеток (PD1), (iii) PDL1, (iv) LAG3, (v) B7-H3, (vi) B7-H4 и (vii) TIM3. Ингибитор CTLA4

ипилимумаб был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США для лечения меланомы.

[0178] Еще другие средства, которые можно использовать как часть комбинированной терапии при лечении рака, представляют собой средства моноклональных антител, которые нацелены на мишени, не являющиеся контрольными точками (например, герцептин), и нецитотоксические средства (например, ингибиторы тирозинкиназы).

[0179] Еще другие категории противораковых средств включают, например: (i) ингибитор, выбранный из ингибитора ALK, ингибитора ATR, антагониста A2A, ингибитора эксцизионной репарации оснований, ингибитора тирозинкиназы Bcr-Abl, ингибитора тирозинкиназы Брутона, ингибитора CDC7, ингибитора CHK1, ингибитора циклин-зависимой киназы, ингибитора ДНК-ПК, ингибитора ДНК-ПК и mTOR, ингибитора DNMT1, ингибитора DNMT1 плюс 2-хлордезоксиаденозин, ингибитора HDAC, ингибитора сигнального пути Hedgehog, ингибитора IDO, ингибитора JAK, ингибитора mTOR, ингибитора MEK, ингибитора MELK, ингибитора MTH1, ингибитора PARP, ингибитора фосфоинозитид-3-киназы, ингибитора как PARP1, так и DHODH, ингибитора протеасомы, ингибитора топоизомеразы-II, ингибитора тирозинкиназы, ингибитора VEGFR и ингибитора WEE1; (ii) агонист OX40, CD137, CD40, GITR, CD27, HVEM, TNFRSF25 или ICOS; и (iii) цитокин, выбранный из IL-12, IL-15, GM-CSF и G-CSF.

[0180] Белки по настоящему изобретению можно также использовать в качестве дополнения к хирургическому удалению основного поражения.

[0181] Количество белка, конъюгата или клеток, описанных в настоящем документе, и дополнительного терапевтического средства и относительное время введения могут быть выбраны для достижения желаемого комбинированного терапевтического эффекта. Например, при назначении комбинированной терапии пациенту, нуждающемуся в таком введении, терапевтические средства в комбинации или фармацевтическую композицию или композиции, содержащие терапевтические средства, можно вводить в любом порядке, таком как, например, последовательно, одновременно, вместе, одновременно и тому подобное. Кроме того, например, белок, конъюгат или клетка, раскрытые в настоящем документе, можно вводить в то время, когда дополнительное терапевтическое средство(а) проявляет свое профилактическое или терапевтическое действие, или наоборот.

IV. Фармацевтические композиции

[0182] В настоящем описании также раскрыты фармацевтические композиции, которые содержат терапевтически эффективное количество описанного в настоящем документе белка. Композиция может быть составлена для использования в различных системах доставки лекарственных средств. Один или несколько физиологически приемлемых вспомогательных средств или носителей также могут быть включены в композицию для надлежащего состава. Подходящие составы для использования в настоящем описании можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa, 17th ed, 1985. For a brief review of methods for drug delivery, см, например, в Langer (Science 249:1527-1533, 1990).

[0183] В одном аспекте настоящее изобретение относится к составу белка, который содержит сайт связывания FLT3, описанный в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0184] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%), идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13, и переменный домен легкой цепи, имеющий

аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:30. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи,

имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:34. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:37, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41, и переменный домен легкой цепи имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:45, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:49, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%,

93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:60, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:61. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:72, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:73. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:76, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:77. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей

мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:90. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:14, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:94. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:95, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:96. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:104, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:105. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:107, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:108. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:123, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:124. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:125, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления состав включает белок, который включает антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, имеющим аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:131, и варибельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:83.

[0185] Композиция может быть составлена для использования в различных системах доставки лекарственных средств. В композицию для правильного составления могут быть включены один или несколько физиологически приемлемых вспомогательных

веществ или носителей. Подходящие составы для использования в настоящем изобретении можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed, 1985. For a brief review of methods for drug delivery, см. например, Langer (Science 249:1527-1533, 1990).

[0186] Например, настоящее изобретение может существовать в виде водного фармацевтического состава, включающего терапевтически эффективное количество белка в забуференном растворе, образующем состав. Водные носители могут включать стерильную воду для инъекций (SWFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), pH-буферный раствор (например, фосфатно-солевой буфер), стерильный физиологический раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы. В некоторых вариантах осуществления готовят водную композицию, включающую описанный в настоящем документе белок в растворе с pH-буфером. pH препаратов обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 или от 6 до 8 и наиболее предпочтительно от 7 до 8, например от 7 до 7,5. Диапазоны, промежуточные по отношению к приведенным выше значениям pH, также предназначены для того, чтобы быть частью данного раскрытия. Например, предполагается, что диапазоны значений, использующие комбинацию любых перечисленных выше значений в качестве верхнего и/или нижнего пределов, должны быть включены. Примеры буферов, которые будут контролировать pH в этом диапазоне, включают ацетатный (например, ацетат натрия), сукцинатный (такой как сукцинат натрия), глюконатный, гистидиновый, цитратный и другие буферы на основе органических кислот. В некоторых вариантах осуществления буферная система включает моногидрат лимонной кислоты, цитрат натрия, дигидрат динатрийфосфата и/или дигидрат дигидрофосфата натрия. В некоторых вариантах осуществления буферная система включает около 1,3 мг/мл лимонной кислоты (например, 1,305 мг/мл), около 0,3 мг/мл цитрата натрия (например, 0,305 мг/мл), около 1,5 мг/мл динатрийфосфата дигидрата (например, 1,53 мг/мл), около 0,9 мг/мл дигидрата дигидрофосфата натрия (например, 0,86) и около 6,2 мг/мл хлорида натрия (например, 6,165 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления буферная система включает от 1 до 1,5 мг/мл лимонной кислоты, от 0,25 до 0,5 мг/мл цитрата натрия, от 1,25 до 1,75 мг/мл дигидрата динатрия фосфата, от 0,7 до 1,1 мг/мл дигидрата дигидрофосфата натрия и от 6,0 до 6,4 мг/мл хлорида натрия. pH жидкого состава можно установить добавлением фармацевтически приемлемой кислоты и/или основания. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемой кислотой может быть соляная кислота. В

некоторых вариантах осуществления основание может представлять собой гидроксид натрия.

[0187] В некоторых вариантах осуществления состав включает водный носитель, который является фармацевтически приемлемым (безопасным и нетоксичным для введения человеку) и применим для приготовления жидкого состава. Иллюстративные носители включают стерильную воду для инъекций (SWFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), pH-буферный раствор (например, фосфатно-солевой буфер), стерильный физиологический раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы.

[0188] В состав также может быть включен полиол, который действует как тонизирующее средство и может стабилизировать антитело. Полиол добавляют в состав в количестве, которое может варьироваться в зависимости от желаемой изотоничности состава. В некоторых вариантах осуществления водный состав может быть изотоническим. Количество добавляемого полиола также может быть изменено в зависимости от молекулярной массы полиола. Например, может быть добавлено меньшее количество моносахарида (например, маннита) по сравнению с дисахаридом (таким как трегалоза). В некоторых вариантах осуществления полиол, который можно использовать в препарате в качестве средства, повышающего тоничность, представляет собой маннит. В некоторых вариантах осуществления концентрация маннита может составлять от около 5 до около 20 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация маннита может составлять от около 7,5 до около 15 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация маннита может составлять от около 10 до около 14 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация маннита может составлять около 12 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления в состав может быть включен полиолсорбит.

[0189] В состав также могут быть добавлены детергент или поверхностно-активное вещество. Примеры детергентов включают неионогенные детергенты, такие как полисорбаты (например, полисорбаты 20, 80 и т.д.) или полуксамеры (например, полуксамер 188). Количество добавляемого детергента таково, что оно уменьшает агрегацию антитела в составе и/или минимизирует образование частиц в составе и/или уменьшает адсорбцию. В некоторых вариантах осуществления состав может включать поверхностно-активное вещество, которое представляет собой полисорбат. В некоторых вариантах осуществления состав может содержать детергент полисорбат 80 или твин 80. Твин 80 представляет собой термин, используемый для описания полиоксиэтилен (20) сорбитанмоноолеата (см. Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf,

4th edi, 1996). В некоторых вариантах осуществления состав может содержать от около 0,1 мг/мл до около 10 мг/мл полисорбата 80 или от около 0,5 мг/мл до около 5 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления в состав может быть добавлено около 0,1% полисорбата 80.

[0190] В некоторых вариантах осуществления жидкий состав по настоящему изобретению может быть приготовлен в виде раствора с концентрацией 10 мг/мл в сочетании с сахаром на стабилизирующих уровнях. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав может быть приготовлен в водном носителе. В некоторых вариантах осуществления стабилизатор может быть добавлен в количестве, не превышающем то, которое может привести к нежелательной или непригодной для внутривенного введения вязкости. В некоторых вариантах осуществления сахар может представлять собой дисахариды, например, сахарозу. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав может также включать один или несколько буферных средств, поверхностно-активное вещество и консервант, которые добавляются в составы по настоящему изобретению для снижения бактериального действия. Добавление консерванта может, например, облегчить получение многодозового (многодозового) препарата.

[0191] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает состав с увеличенным сроком хранения, включающий белок согласно настоящему изобретению в сочетании с маннитом, моногидратом лимонной кислоты, цитратом натрия, дигидратом динатрийфосфата, дигидратом дигидрофосфата натрия, хлоридом натрия, полисорбатом 80, водой и гидроксидом натрия.

[0192] Дезамидирование является распространенным вариантом продукта пептидов и белков, что может происходить во время ферментации, сбора/осветления клеток, очистки, хранения лекарственного вещества/лекарственного продукта и во время анализа образцов. Дезамидирование представляет собой потерю NH_3 из белка с образованием промежуточного соединения сукцинимид, которое может подвергаться гидролизу. Промежуточный сукцинимид приводит к уменьшению массы исходного пептида на 17 дальтон. Последующий гидролиз приводит к увеличению массы на 18 дальтон. Выделение промежуточного соединения сукцинимид затруднено из-за нестабильности в водных условиях. Таким образом, дезамидирование обычно определяется как увеличение массы на 1 дальтон. В результате дезамидирования аспарагина образуется либо аспарагиновая, либо изоаспарагиновая кислота. Параметры, влияющие на скорость дезамидирования, включают pH, температуру, диэлектрическую

проницаемость растворителя, ионную силу, первичную последовательность, локальную конформацию полипептида и третичную структуру. Аминокислотные остатки, соседние с Asn в пептидной цепи, влияют на скорость дезамидирования. Gly и Ser, следующие за Asn в белковых последовательностях, приводят к более высокой восприимчивости к дезамидированию. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав по настоящему изобретению может храниться в условиях рН и влажности для предотвращения дезамидирования белкового продукта.

[0193] В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой лиофилизированный состав. В некоторых вариантах осуществления состав является сублимированным (лиофилизированным) и содержится в около 12-60 флаконах. В некоторых вариантах осуществления состав является лиофилизированным, и в одном флаконе может содержаться 45 мг лиофилизированного состава. В некоторых вариантах осуществления в одном флаконе содержится от около 40 мг до около 100 мг лиофилизированного состава. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный состав из 12, 27 или 45 флаконов объединяют для получения терапевтической дозы белка в лекарственном препарате для внутривенного введения. Состав может быть жидким составом. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав хранится в количестве от около 250 мг/флакон до около 1000 мг/флакон. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав хранится в количестве около 600 мг/флакон. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав хранится в количестве около 250 мг/флакон.

[0194] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный состав включает белки, описанные в настоящем документе, и лиопротектор. Лиопротектор может представлять собой сахар, например, дисахариды. В некоторых вариантах осуществления лиопротектор может представлять собой сахарозу или мальтозу. Лиофилизированный состав может также включать один или несколько буферных средств, поверхностно-активных веществ, наполнителей и/или консервантов. Количество сахарозы или мальтозы, подходящее для стабилизации лиофилизированного лекарственного продукта, может быть в массовом соотношении по меньшей мере 1:2 белка к сахарозе или мальтозе. В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение белка и сахарозы или мальтозы может составлять от 1:2 до 1:5.

[0195] В некоторых вариантах осуществления рН состава перед лиофилизацией можно установить путем добавления фармацевтически приемлемой кислоты и/или основания. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемой

кислотой может быть соляная кислота. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемое основание может представлять собой гидроксид натрия. Перед лиофилизацией pH раствора, содержащего белок по настоящему изобретению, можно довести до значения от 6 до 8. В некоторых вариантах осуществления диапазон pH лиофилизированного лекарственного продукта может составлять от 7 до 8.

[0196] В некоторых вариантах осуществления может быть добавлен «наполнитель». «Наполнитель» представляет собой соединение, которое увеличивает массу лиофилизированной смеси и вносит вклад в физическую структуру лиофилизированной лепешки (например, облегчает получение по существу однородной лиофилизированной лепешки, сохраняющей структуру с открытыми порами). Примеры наполнителей включают маннит, глицин, полиэтиленгликоль и сорбит. Лиофилизированные составы по настоящему изобретению могут содержать такие наполнители.

[0197] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный белковый продукт содержит водный носитель. Представляющий интерес водный носитель в настоящем документе является фармацевтически приемлемым (например, безопасным и нетоксичным для введения человеку) и пригодным для приготовления жидкого препарата после лиофилизации. Иллюстративные разбавители включают стерильную воду для инъекций (SWFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), pH-буферный раствор (например, фосфатно-солевой буфер), стерильный физиологический раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный лекарственный продукт по настоящему изобретению восстанавливают либо стерильной водой для инъекций, USP (SWFI), либо раствором 0,9% хлорида натрия для инъекций, USP. Во время восстановления лиофилизированный порошок растворяется в растворе. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный белковый продукт по настоящему описанию составляет около 4,5 мл воды для инъекций и разбавлен 0,9% солевым раствором (раствором хлорида натрия).

[0198] Белковые композиции могут быть стерилизованы обычными способами стерилизации или могут быть подвергнуты стерилизующей фильтрации. Полученные водные растворы могут быть упакованы для применения как есть или лиофилизированы, при этом перед введением лиофилизированный препарат смешивают со стерильным водным носителем. Полученные композиции в твердой форме могут быть расфасованы в несколько единиц однократной дозы, каждая из которых содержит фиксированное

количество вышеупомянутого средства или средств. Композиция в твердой форме также может быть упакована в контейнер, позволяющий варьировать ее количество.

[0199] Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьироваться для получения количества активного ингредиента, эффективного для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, без токсичности для больного.

[0200] Конкретная доза может представлять собой единую дозу для каждого пациента, например, от 50 до 5000 мг белка. В качестве альтернативы, доза для пациента может быть адаптирована к приблизительной массе тела или площади поверхности тела пациента. Другие факторы при определении подходящей дозировки могут включать заболевание или состояние, подлежащее лечению или профилактике, тяжесть заболевания, способ введения, и возраст, пол и состояние здоровья пациента. Дальнейшее уточнение расчетов, необходимых для определения подходящей дозы для лечения, обычно проводится специалистами в данной области техники, особенно в свете информации о дозировке и анализах, раскрытых в настоящем документе. Дозировка также может быть определена посредством использования известных анализов для определения дозировок, используемых в сочетании с соответствующими данными дозореакция. Индивидуальная доза пациента может быть скорректирована по мере наблюдения за течением заболевания. Уровни нацеливаемой конструкции или комплекса в крови пациента можно измерить, чтобы увидеть, нужно ли корректировать дозировку для достижения или поддержания эффективной концентрации. Фармакогеномика может быть использована для определения того, какие целевые конструкции и/или комплексы и их дозы наиболее эффективны для данного индивидуума (Schmitz *et al*, *Clinica. Chimica. Acta.* 308: 43-53, 2001; Steimer *et al*, *Clinica. Chimica. Acta.* 308: 33-41, 2001).

[0201] Как правило, дозы в расчете на массу тела составляют от около 0,01 мкг до около 100 мг на кг массы тела, например, от около 0,01 мкг до около 100 мг/кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 50 мг/кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 10 мг/кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 1 мг/кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 100 мкг /кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 50 мкг /кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 10 мкг /кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 1 мкг /кг массы тела, от около 0,01 мкг до около 0,1 мкг /кг массы тела, от около 0,1 мкг до около 100 мг/ кг массы тела, от около 0,1 мкг до около 50 мг/кг массы тела, от около 0,1 мкг до около 10

мг/кг массы тела, от около 0,1 мкг до около 1 мг/кг массы тела, от около 0,1 мкг до около 100 мкг /кг массы тела, от около 0,1 мкг до около 10 мкг /кг массы тела, от около 0,1 мкг до около 1 мкг /кг массы тела, от около 1 мкг до около 100 мг/кг массы тела, от около 1 мкг до около 50 мг/кг массы тела, от около 1 мкг до около 10 мг/кг массы тела, от около 1 мкг до около 1 мг/кг массы тела, от около 1 мкг до около 100 мкг /кг массы тела, от около 1 мкг до около 50 мкг /кг массы тела, от около 1 мкг до около 10 мкг /кг массы тела, от около 10 мкг до около 100 мг/кг массы тела, от около 10 мкг до около 50 мг/кг массы тела, от около 10 мкг до около 10 мг/кг массы тела, от около 10 мкг до около 1 мг/кг массы тела, от около 10 мкг до около 100 мкг/кг массы тела, от около 10 мкг до около 50 мкг/кг массы тела, от около 50 мкг до около 100 мг/кг массы тела, около 50 мкг до около 50 мг/кг массы тела, от около 50 мкг до около 10 мг/кг массы тела, от около 50 мкг до около 1 мг/кг массы тела, от около 50 мкг до около 100 мкг/кг массы тела, от около от 100 мкг до около 100 мг/кг массы тела, от около 100 мкг до около 50 мг/кг массы тела, от около 100 мкг до около 10 мг/кг массы тела, от около 100 мкг до около 1 мг/кг массы тела, от около 1 мг до около 100 мг/кг массы тела, от около 1 мг до около 50 мг/кг массы тела, около 1 мг до около 10 мг/кг массы тела, от около 10 мг до около 100 мг/кг массы тела, от около 10 мг до около 50 мг/кг массы тела, от около 50 мг до около 100 мг/кг массы тела. Дозы можно вводить один или несколько раз в день, еженедельно, ежемесячно или ежегодно или даже один раз в 2–20 лет. Специалисты в данной области техники могут легко оценить частоту повторения дозирования на основе измеренного времени пребывания и концентраций целевого конструкта или комплекса в жидкостях или тканях организма. Введение по настоящему изобретению может быть внутривенным, внутриартериальным, внутрибрюшинным, внутримышечным, подкожным, внутривенральным, подоболочечным, внутриволостным, перфузией через катетер или прямой инъекцией в очаг поражения. Его можно вводить один или несколько раз в день, один или несколько раз в неделю, один или несколько раз в месяц и один или несколько раз в год.

[0202] Вышеприведенное описание описывает несколько аспектов и вариантов осуществления настоящего изобретения. Патентная заявка конкретно рассматривает все комбинации и перестановки аспектов и вариантов осуществления.

[0203] На протяжении всего описания, если композиции описываются как имеющие, включающие или содержащие определенные компоненты, или где процессы и способы описываются как имеющие, включающие или включающие определенные стадии, предполагается, что, кроме того, существуют композиции по настоящему изобретению,

которые состоят в основном или состоят перечисленных компонентов, и что существуют процессы и способы согласно настоящему изобретению, которые в основном состоят или состоят перечисленных стадий обработки.

[0204] В заявке, где говорится, что элемент или компонент включен и/или выбран из списка перечисленных элементов или компонентов, следует понимать, что элемент или компонент может быть любым из перечисленных элементов или компонентов, или элемент или компонент может быть выбран из группы, состоящей из двух или более перечисленных элементов или компонентов.

[0205] Кроме того, следует понимать, что элементы и/или признаки композиции или способа, описанные в настоящем документе, могут объединяться различными способами без отклонения от сущности и объема настоящего изобретения, явного или неявного. Например, когда делается ссылка на конкретное соединение, данное соединение можно использовать в различных вариантах осуществления композиций по настоящему изобретению и/или в способах по настоящему изобретению, если контекста не следует иное. Другими словами, в данной заявке варианты осуществления были описаны и изображены таким образом, чтобы можно было написать и нарисовать четкую и краткую заявку, но предполагается и будет понятно, что варианты осуществления могут быть по-разному объединены или разделены без отрыва от настоящего учения(й) и изобретения(й). Например, будет понятно, что все признаки, описанные и изображенные в настоящем документе, могут быть применимы ко всем описанным и изображенным в настоящем документе аспектам изобретения(й).

[0206] Следует понимать, что выражение «по меньшей мере один из» включает индивидуально каждый из перечисленных объектов после выражения и различные комбинации из двух или более перечисленных объектов, если иное не следует из контекста и использования. Выражение «и/или» в связи с тремя или более перечисляемыми объектами следует понимать как имеющее то же значение, если иное не следует из контекста.

[0207] Использование термина «включать», «включает», «включая», «иметь», «имеет», «имеющий», «содержать», «содержит» или «содержащий», включая их грамматические эквиваленты, следует понимать как правило, как неограниченный и не ограничивающий, например, не исключающий дополнительные неуказанные элементы или стадии, если иное специально не указано или не понятно контекста.

[0208] Если термин «около» используется перед количественным значением, настоящее изобретение также включает само конкретное количественное значение, если

специально не указано иное. Используемый в настоящем документе термин «около» относится к отклонению $\pm 10\%$ от номинального значения, если не указано или не предполагается иное.

[0209] Следует понимать, что порядок стадий или порядок выполнения определенных действий не имеет значения, пока настоящее изобретение остается работоспособным. Более того, две или более стадий или действий могут выполняться одновременно.

[0210] Использование любых и всех примеров или иллюстративного языка в настоящем документе, например, «такой как» или «включая», предназначено просто для лучшей иллюстрации настоящего изобретения и не налагает ограничения на объем изобретения, если не заявлено. Никакая формулировка в описании не должна толковаться как указывающая на какой-либо не заявленный элемент как существенный для практического применения настоящего изобретения.

ПРИМЕРЫ

[0211] Следующие примеры являются просто иллюстративными и никоим образом не предназначены для ограничения объема или содержания изобретения.

Пример 1. Характеристика супернатантов выбранных гибридных клонов

[0212] FLT3-специфические антитела были получены путем иммунизации мышей слитым белком hFLT3-His. Супернатанты 228 гибридом оценивали на связывание FLT3 с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), и 96 гибридом нековалентно связывались с белком hFLT3-His. Одиннадцать клонов были отобраны на основе предварительных оценок аффинности связывания с помощью интерферометрии биослоев (BLI), связывания с клетками человека и яванского макака, экспрессирующих FLT3, и разнообразия эпитопов. Способность данных 11 клонов связывать hFLT3-His дополнительно анализировали с помощью поверхностного плазмонного резонанса высокого разрешения (SPR). Эксперимент проводился при температуре 37 °C для имитации физиологической температуры с использованием прибора Biacore 8K. Biacore сенсограммы и кинетические параметры представлены в таблице 4. и необработанные данные и подборки показаны на **ФИГ. 1**. Семь из одиннадцати гибридом связаны с K_D менее 10 нМ, и пять демонстрируют медленную константу скорости диссоциации ($k_d < 5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$).

[0213] Биннинг слитых гибридом с эталонными mAb выполняли с помощью BLI с использованием OctetRed384 (ForteBio). Вкратце, супернатанты гибридомы загружали

на концевые датчики захвата анти-мышинных IgG на 15 минут и уравнивали в течение 5 минут в PBSF. Датчики погружали в 200 нМ hFLT3-His и оставляли для ассоциации на 180 секунд с последующим погружением в 100 нМ раствор контрольного IgG или 200 нМ раствор FLT3-лиганда. Увеличение числа единиц ответа указывает на то, что гибридомы не являются конкурентами эталонного mAb, в то время как отсутствие увеличения сигнала указывает на то, что гибридомы действительно конкурируют с эталонным mAb. FL23 (Amgen) и FL39 (Amgen) связываются с доменом 1. EB10 (ImClone), известный блокатор лиганда FLT3, связывается с доменом 3. FL61 (Amgen) также связывается с доменом 3, но не блокирует лиганд FLT3. 4G8 (Synimmune) связывается с доменом 4. NC7 (Imclone) связывается с доменом 5. Последовательности VH и VL данных эталонных антител представлены в таблице 3.

Таблица 3. Эталонные антитела

α-FLT3 mAb	VH	VL
4G8 (Synimmune), раскрыто в публикации заявки США № 2015/0119555A1	QVQLQQPGAELVKPGASLKLSCKS SGYTFTSYWMHWVRQRPBGHLE WIGEIDPSDSYKDYNQKFKDKATL TVDRSSNTAYMHLSSLTSDDSAVY YCARAITTTPDFWGGQTTTLTVSS (SEQ ID NO:135)	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSL CRASQSISSNLHWYQQKSHES PRLIKYASQSIGIPSRFSGSG TDFTLINSVETEDFGVYFCQ QSNTWPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:136)
EB10 (ImClone/Lilly), раскрыто в публикации заявки США № 2011/0008355A1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCK ASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFGQGRVT MTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAV YYCARGVGAHDAFDIWGGQTTVT VSS (SEQ ID NO:137)	DVVMTQSPSLPVTGPGEPA CRSSQSLLSNNGNLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSRASGV PDRFSGSGSDTDFTLQISRVEA EDVGVYYCMQGTHTPAISFGQ GTRLEIK (SEQ ID NO:138)
NC7 (Imclone /Lilly), раскрыто в публикации заявки США № 2011/0008355A1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCK ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFGQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCATFALFGFREQAQFDIWGGQTTV TVSS (SEQ ID NO:139)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDLATY YCQQSYSTPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:140)
FL23 (Amgen), раскрыто в публикации заявки США № 2017/0037149A1	QVTLKESGPALVKPTETLTLTCTV SGFSFRNARMGVSWIRQPPGKALE WLAHIFSNDEKSYSTSLKSRLTISK DTSKQVVLTLTNMDPVDTATYF CARMPEYSSGWSGAFDIWGGQTM VTVSS (SEQ ID NO:141)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDIGYDLGWYQQKPGK APKRLIYAASLQSGVPSRFSG GSGSGTEFTLISSLQPEDFAT YYCLQHNSFPWTFGQGTKVEI K (SEQ ID NO:142)
FL39 (Amgen), раскрыто в публикации заявки США № 2017/0037149A1	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLS GFSLNARMGVSWIRQPPGKCLE WLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISK DSSKTQVVLMTNVDVDTATYYC ARIVGYGSGWYGFDFYWGQGTLLV TVSS (SEQ ID NO:143)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNDLGWYQQKPGK APKRLIYAASLQSGVPSRFSG GSGSGTEFTLISSLQPEDFAT YYCLQHNSYPLTFGCGTKVEI K (SEQ ID NO:144)

FL61 (Amgen), раскрыто в публикации заявки США № 2017/0037149A1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCA ASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSNEFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGGEITMVRGVIGYYYYGM DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:145)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCLQHNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:146)
---	--	--

[0214] Было замечено, что антитела, полученные из пяти гибридом, а именно 4A4, 11F4, 1A2, 4H2 и 13C9, не конкурировали ни с одним эталонных антител за связывание с hFLT3-His. Перекрестную реактивность с FLT3 яванского макака (cFLT3) оценивали путем измерения связывания антител с изогенными клетками RMA, экспрессирующими cFLT3.

[0215] Вкратце, клетки RMA трансдуцировали ретровирусным вектором, кодирующим cFLT3 или FLT3 человека (hFLT3). Связывание mAb α -FLT3 неочищенных гибридомных растений с изогенными клеточными линиями hFLT3 или cFLT3, а также с линиями раковых клеток FLT3+ осуществляли следующим образом. Добавляли 100000 клеток RMA, REN или SEM на лунку 96-луночного круглодонного планшета. Клетки центрифугировали и осадок осторожно диссоциировали встряхиванием. Добавляли по 50 мкл красителя Zombie live/dead (PBS + краситель 1:2000) на лунку и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 20 минут. Клетки промывали 200 мкл буфера FACS (PBS + 2% FBS). К промытым клеткам добавляли 50 мкл супернатантов гибридом и смеси инкубировали в течение 30 минут на льду в темноте. Клетки промывали один раз, затем добавляли 50 мкл вторичного реагента против Fc-PE мыши (разведение 1:200) и инкубировали в течение 20 минут на льду в темноте. Клетки промывали и фиксировали 50 мкл 4% параформальдегида в течение 15 минут на льду. Клетки снова промывали и затем ресуспендировали в 200 мкл буфера FACS и хранили при 4°C до готовности к сбору. Образцы запускали на BD FACSCelesta, оснащенном HTS (высокопроизводительным пробоотборником).

[0216] Также измеряли аффинность связывания супернатантов гибридомы с раковыми клетками REN (номер по каталогу ATCC CRL-8286), линией клеток ALL человека, которая, как сообщается, экспрессирует FLT3. Как показано в таблице 4, большинство клонов проявляли аффинность связывания с раковыми клетками, экспрессирующими hFLT3, и перекрестную реактивность с cFLT3. Данные по связыванию FLT3 яванского макака для 14A5 и 15A11 не собирались.

Таблица 4. Кинетические параметры и аффинность связывания FLT3-His с антителами, полученными гибридом-кандидатов

Тестируемые продукты	Биннинговый профиль	SPR при 37 °C			Связывание клеток MFI		
		k_a (1/мс)	k_d (1/с)	K_D (нМ)	RMA-hFLT3	RMA-cFLT3	REN
4A4	уникальный	$3,38 \times 10^5$	$3,35 \times 10^{-4}$	1,0	1493	2002	2002
11F4	уникальный	$1,73 \times 10^5$	$1,88 \times 10^{-4}$	1,1	305	495	495
12H10	4G8	$1,74 \times 10^5$	$3,43 \times 10^{-4}$	2,0	544	696	696
15A11	EB10	$4,99 \times 10^5$	$1,17 \times 10^{-4}$	2,3	332	н/д	н/д
12C9	FL23	$5,67 \times 10^4$	$3,11 \times 10^{-4}$	5,4	1020	3937	664
1A2	уникальный	$1,14 \times 10^5$	$7,49 \times 10^{-4}$	6,5	238	461	461
14A5	FL23	$1,70 \times 10^5$	$1,49 \times 10^{-3}$	8,7	1005	н/д	2071
4H2	уникальный	$8,05 \times 10^4$	$9,18 \times 10^{-4}$	11	570	1017	1017
13C9	уникальный	$2,12 \times 10^5$	$3,02 \times 10^{-3}$	14	546	834	834
8F02	FL23	$1,67 \times 10^5$	$2,80 \times 10^{-3}$	17	829	2729	2271
14H08	FL23	$1,29 \times 10^5$	$2,40 \times 10^{-3}$	19	959	3074	1776

Пример 2. Анализ очищенных мышинных антител против FLT3

[0217] На основании представленного выше анализа восемь гибридом (4A4, 11F4, 12H10, 15A11, 12C09, 1A2, 14A5, 4H2) были отобраны для субклонирования и секвенирования. Получали и анализировали по два субклона от каждой родительской гибридомы. Последовательности каждой гибридомы были определены как уникальные. Каждый субклон очищали гибридомной культуры, и связывание с hFLT3-His подтверждали с помощью SPR, как показано на **ФИГ. 2**. Кинетические константы и аффинности связывания hFLT3 с очищенными мышинными субклонированными mAb показаны в Таблица 5. Биннинг с эталонными антителами проводили с использованием способа, описанного в примере 1, и четыре антитела, а именно 4A4.A3, 11F4.B9, 1A2.A3 и 4H2.E3 не конкурировали ни с одним эталонных антител за связывание с hFLT3-His.

Таблица 5: Кинетические параметры и аффинность связывания hFLT3 с очищенными мышинными субклонами

Тестируемые продукты	k_a (1/мс)	k_d (1/с)	K_D , (нМ)
1A2.A3	$1,1 \times 10^5$	$8,9 \times 10^{-4}$	8,5
4A4.A3	$1,1 \times 10^5$	$8,2 \times 10^{-4}$	7,3
4H2.E3	$5,7 \times 10^4$	$1,0 \times 10^{-3}$	17,6
11F4.B9	$1,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^{-4}$	1,7
12C9.E5	$3,4 \times 10^4$	$6,3 \times 10^{-4}$	18,7
12H10.G7	$1,0 \times 10^5$	$5,5 \times 10^{-4}$	5,4
14A5.E8	$1,3 \times 10^5$	$1,9 \times 10^{-3}$	15,1
15A11.C8	$4,5 \times 10^4$	$4,8 \times 10^{-4}$	10,5

[0218] Связывание очищенных субклонированных mAb с клетками подтверждали с помощью изогенных линий клеток FLT3 человека и яванского макака, экспрессирующих RMA. За исключением 12C9.E5, все клоны, связанные с клеточной поверхностью, экспрессировали FLT3 человека и яванского макака (Таблица 6). Аналогично, все субклоны связывались с высокой аффинностью с SEM (номер по каталогу DSMZ ACC 546), линия клеток ALL человека, как сообщалось, экспрессировала FLT3.

Таблица 6: Подтверждение клеточного связывания очищенных мышинных mAb с клеточными линиями FLT3 RMA человека и яванского макака.

Тестируемые продукты	RMA-hFLT3 EC50 (нМ)	RMA-hFLT3 Макс. MFI	RMA-cFLT3 EC50 (нМ)	RMA-cFLT3 Макс. MFI	SEM EC50 (нМ)	SEM Макс. MFI
1A2.A3	0,80	499	1,82	2834	5,47	1361
4A4.A3	0,72	1021	1,07	5566	3,29	2352
4H2.E3	0,66	696	1,56	3454	7,57	1510
11F4.B9	0,53	493	1,23	2589	2,43	1141
12C9.E5	NB*	NB	NB	NB	NB	NB
12H10.G7	0,36	1136	0,94	5262	3,20	2831
14A5.E8	~ 2,07	415	1,25	1779	~ 1,07	1956
15A11.C8	0,41	1406	0,82	6512	~ 1,13	3861

Пример 3. Свойства блокирования лиганда выбранных мышинных антител против FLT3

[0219] Данный пример был разработан для характеристики способности выбранных мышинных антител против FLT3 блокировать взаимодействия FLT3 с FLT3-лигандом. Способность α -FLT3-mAb связывать экспрессирующие FLT3 раковые клетки EOL-1 (номер по каталогу DSMZ ACC 386) тестировали до и после добавления насыщающих концентраций растворимого FLT3-лиганда. Для каждого антитела рассчитывали процент его значения блокирования лиганда как уменьшение сигнала связывания mAb, полученного в присутствии FLT3-лиганда, по сравнению с сигналом, полученным в отсутствие указанного FLT3-лиганда. В качестве положительного контроля использовали известный блокатор FLT3-лиганда EB10 mAb. Как показано на **ФИГ. 3**, антитела 12H10.G7, 11F4.B9 и 4A4.A3, 14A5.E8 не препятствовали связыванию FLT3 с

FLT3-лигандом, тогда как антитело 15A11.C8 блокировало связывание FLT3-лиганда с FLT3.

Пример 4. Анализ потенциальных уязвимостей последовательностей

[0220] Были изучены потенциальные уязвимости последовательностей CDR (идентифицированных по Chothia) антител 12H10.G7, 11F4.B9 и 4A4.A3, 14A5.E8. Были рассмотрены следующие потенциальные уязвимости: M (потенциальный сайт окисления); мотив последовательности NG, NS и NT (потенциальный сайт дезамидирования); мотив последовательности DG, DS и DT (потенциальный сайт изомеризации); мотив последовательности DP (потенциальный сайт химического гидролиза). Результаты обобщены в таблице 7.

Таблица 7. Потенциальные уязвимости последовательностей в CDR выбранных мышинных mAb

Идентификатор клона	Потенциальный мотив уязвимости последовательности	Расположение мотива уязвимости последовательности
12H10.G7	DS (сайт изомеризации)	CDRH3
14A5.E8	M (сайт окисления)	CDRL1
11F4.B9	M (сайт окисления), NS (дезамидирование)	CDRL1
	DP (химический гидролиз)	CDRL3
4A4.A3	ничего	

[0221] Кроме того, также была идентифицирована потенциальная уязвимость последовательности в M34, которая попадает в CDRH1 из 12H10.G7 по Kabat. Были разработаны варианты данных антител, с последовательностями, из которых мотивы потенциальных уязвимостей были удалены.

Пример 5. Гуманизация и созревание аффинности

[0222] На основании собранных данных, касающихся кинетики и аффинности рекомбинантного белка hFLT3, связывания с клеточными линиями, экспрессирующими FLT3 человека и яванского макака, связывания с различными раковыми клетками AML и ALL, профиля биннинга, а также отсутствия ингибирования связывания лиганда FLT3 человека, четыре мышинных субклона гибридомы, а именно 12H10.G7, 11F4.B9, 4A4.A3 и 14A5.E8, были отобраны для гуманизации. Хотя 4A4.A3 и 14A5.E8 показали несколько более низкую аффинность к hFLT3, чем 12H10.G7 и 11F4.B9, данные антитела, по видимому, связывались с уникальным эпитопом (не блокируя перекрестно с

эталонными антителами) и доменом 1 FLT3, соответственно, и поэтому были дополнительно проанализированы для изучения разнообразия эпитопов.

[0223] Антитело 12H10.G7 гуманизировали для создания GB94 и GB102, как описано выше, которые имели одинаковые последовательности VH и VL. Обратные мутации были введены в каркасные области для создания вариантов от GB87 до GB93 и от GB95 до GB101.

[0224] Антитело 11F4.B9 гуманизировали для создания 1153 и 1154, как описано выше, которые имели одинаковые последовательности VH и VL. Обратные мутации вводили в каркасные области для создания вариантов 1151 и 1152. Антитело 1153 также подвергалось созреванию аффинности. Вкратце, была разработана и представлена на поверхности дрожжей библиотека, ориентированная на CDR 1553 FLT3 scFv. Селекцию FACS проводили дважды путем инкубации дрожжей с биотинилированным человеческим антигеном FLT3-His. Выходные образцы, обогащенные FACS, объединяли с дополнительными мутантами CDR для создания второй библиотеки. Два раунда дополнительной селекции FACS проводили путем титрования биотинилированным человеческим FLT3-His от 100 нМ до 1 нМ. Сортировку проводили при 10нМ, при этом для библиотеки наблюдалось явное увеличение сигнала по сравнению с родительской библиотекой. Отсортированные клоны дрожжей высевали и подвергали скринингу.

Пример 6. Оценка связывания антител с клетками, экспрессирующими раковые антигены человека

[0225] Изогенные клеточные линии, эктопически экспрессирующие FLT3 человека и яванского макака, использовали для оценки перекрестной реактивности между FLT3 человека и яванского макака. Линию раковых клеток человека RMA, экспрессирующую hFLT3 или cFLT3, использовали для оценки связывания опухолевого антигена FLT3-связывающими антителами. Линии клеток AML человека MOLM-13 и MV4-11 и линию клеток ALL человека REN использовали для оценки связывающей способности антител. В частности, клетки MOLM-13, экспрессирующие FLT3-T227M, использовали для оценки способности анти-FLT3-антитела связывать мутантный FLT3.

[0226] 1158 mAb, моноклональное антитело, гуманизированное из 12H10.G7 в формате человеческого IgG1, разводили и инкубировали с соответствующими клетками. Затем клетки инкубировали с вторичным антителом против IgG человека, конъюгированным с флуорофором, и анализировали с помощью проточной цитометрии.

Средние значения интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity (MFI)) нормализовали к вторичному контролю только с антителами, чтобы получить значения кратности по сравнению с фоном (fold over background (FOB)).

[0227] Как показано на **ФИГ. 4А** и **ФИГ. 4В**, 1158 mAb связывается с клетками RMA, эктопически экспрессирующими FLT3 человека и яванского макака, с эквивалентной эффективностью. Как показано на **ФИГ. 4С**, 1158 mAb связывалось с клетками REN, которые представляли собой клетки ALL человека. Как показано на **ФИГ. 5**, 1158 mAb связывалось с клетками MOLM-13, которые экспрессировали FLT3-T227M.

[0228] Клетки MV4-11, которые экспрессировали FLT3-ITD, также использовали для оценки способности анти-FLT3-антитела связывать мутантный FLT3 с использованием аналогичного способа. Было обнаружено, что биспецифическое антитело, содержащее антигенсвязывающий участок в форме scFv, полученного из mAb 1158, связывало клетки MV4-11.

Пример 7. Оценка интернализации антител

[0229] Линию раковых клеток человека EOL-1, полученную от эозинофильного лейкоза, использовали для оценки интернализации FLT3 после инкубации с 1158 mAb. Клетки EOL-1 в двойных планшетах инкубировали с 1158 mAb или контрольным антителом изотипа hIgG1 при 37 °C в течение двух часов. После инкубации клетки промывали и окрашивали общий FLT3 с использованием неконкурирующего антитела против FLT3. Интернализация FLT3 рассчитывалась следующим образом:

$$\% \text{ интернализации} = (1 - (\text{образец MFI 2 часа/hIgG1 изотип MFI 2 часа})) \times 100\%$$

[0230] Интернализация FLT3 после инкубации с 1158 mAb в клетках REN, как измерено с использованием описанного выше способа, составила около 8,27%. Интернализация FLT3 после инкубации с 1158 mAb в клетках EOL-1, как измерено с использованием описанного выше способа, составила около 8,30%.

Пример 8. Анализ цитотоксичности первичных НК-клеток человека

[0231] Лизис клеток-мишеней измеряли с помощью анализа цитотоксичности DELFIA. Вкратце, линии раковых клеток человека, экспрессирующие FLT3, собирали культуры, промывали HBS и ресуспендировали в ростовой среде при 10^6 /мл для мечения реагентом BATDA (Perkin Elmer C136-100). Следовали инструкциям производителя по мечению клеток-мишеней. После мечения клетки трижды промывали HBS и

ресуспендировали в культуральной среде в концентрации $0,5-1,0 \times 10^5$ /мл. В каждую лунку 96-луночного планшета добавляли по 100 мкл ВАТДА-меченых клеток. 1158 mAb разводили в культуральной среде и в каждую лунку добавляли по 50 мкл разбавленного mAb.

[0232] Для получения NK-клеток РВМС выделяли из лейкоцитарных пленок периферической крови человека с помощью центрифугирования в градиенте плотности, промывали и готовили для выделения NK-клеток. NK-клетки выделяли способом отрицательной селекции с использованием магнитных шариков. Чистота выделенных NK-клеток обычно составляла $>90\%$ CD3-CD56+. Изолированные NK-клетки оставляли на ночь и собирали культуры. Затем клетки промывали и ресуспендировали при концентрациях $10^5-2,0 \times 10^6$ /мл в культуральной среде при соотношении эффектор-мишень (Е:Т) 5:1. В каждую лунку планшета добавляли по 50 мкл NK-клеток до общего объема культуры 200 мкл. Планшет инкубировали при 37°C с 5% CO_2 в течение 2-3 часов.

[0233] После инкубации планшет удаляли из инкубатора и клетки осаждали центрифугированием при $200 \times g$ в течение 5 минут. 20 мкл культурального супернатанта переносили на чистый микропланшет и в каждую лунку добавляли по 200 мкл раствора европия комнатной температуры (Perkin Elmer С135-100). Планшет защищали от света и инкубировали на шейкере для планшетов при 250 об/мин в течение 15 минут, затем считывали с помощью приборов SpectraMax i3X.

[0234] Спонтанное высвобождение вещества, способного образовывать флуоресцентный хелат с европием, измеряли в клетках-мишенях, инкубированных в отсутствие NK-клеток. Максимальное высвобождение такого вещества измеряли в клетках-мишенях, лизированных 1% Тритоном-Х. % Удельный лизис рассчитывали следующим образом:

$$\% \text{ Удельный лизис} = ((\text{Экспериментальное высвобождение} - \text{Спонтанное высвобождение}) /$$
$$(\text{Максимальное высвобождение} - \text{Спонтанное высвобождение})) * 100\%.$$

[0235] На **ФИГ. 6А-6D** показана активность mAb 1158 в усилении первичного опосредованного NK-клетками уничтожения клеточных линий AML или ALL человека EOL-1 (**ФИГ. 6А**), Reh (**ФИГ. 6В**), RS4-11 (**ФИГ. 6С**) и MV4-11 (**ФИГ. 6D**). mAb 1158 увеличивало способность NK-клеток уничтожать клетки-мишени дозозависимым образом.

Пример 9. Оценка связывания TriNKET или mAb с цельной кровью человека

[0236] Оценивали способность 1158 mAb связывать различные типы клеток крови. Вкратце, цельную кровь человека инкубировали с 1158 mAb или контрольным антителом изотипа IgG1 человека. Клетки крови анализировали с помощью проточной цитометрии и связывание 1158 mAb или изотипического контрольного антитела определяли с использованием вторичного антитела против человеческого IgG, конъюгированного с флуорофором.

[0237] Значимого связывания mAb 1158 с гранулоцитами, моноцитами, В-клетками, НК-клетками, CD8⁺ Т-клетками и CD4⁺ Т-клетками в крови не наблюдалось.

Пример 10. Активация сигнализации FLT3

[0238] Фосфорилирование FLT3, маркера передачи сигналов FLT3, измеряли с помощью ELISA pFLT3 (R&D Systems DYС368). Клетки EOL-1 высевали в 96-луночные планшеты с круглым дном. Добавляли 1158 mAb и/или FLT3L. Образцы инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут и сразу же осаждали при 300 ×g в течение 5 минут. Клетки дважды промывали PBS. Осадок клеток ресуспендировали в 200 мкл лизирующего буфера #9 и инкубировали на льду в течение 15 минут. Образцы осаждали при 2000 ×g в течение 5 минут и супернатанты переносили в чистые пробирки. Концентрации белка определяли количественно, используя анализ ВСА на общий белок. Образцы разбавляли в IC Diluent #12 соответствующим образом. Лизаты измеряли в соответствии с инструкциями производителя. Концентрацию pFLT3 в каждом образце определяли путем интерполяции значений полученной стандартной кривой. Значения оптической плотности известных стандартов были нанесены на график в зависимости от их соответствующих концентраций, и данные были сопоставлены с моделью линейной регрессии.

[0239] Как показано на **ФИГ. 7А**, FLT3L приводил к 3-кратному увеличению уровней pFLT3, тогда как 1158 mAb не индуцировало значительного фосфорилирования FLT3. На **ФИГ. 7В** показано, что когда клетки инкубировали с 1158 mAb в комбинации с FLT3L, 1158 mAb не ингибировало FLT3L-индуцированное фосфорилирование FLT3. Данные результаты согласуются с наблюдением, что 1158 mAb не конкурирует с FLT3L за связывание FLT3.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

[0240] Если не указано иное, полное раскрытие каждого патентных документов и научных статей, упомянутых в настоящем документе, включено посредством ссылки для всех целей.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

[0241] Изобретение может быть реализовано в других конкретных формах без отклонения от его сущности или существенных характеристик. Таким образом, вышеприведенные варианты осуществления во всех отношениях следует рассматривать как иллюстративные, а не ограничивающие изобретение, описанное в настоящем документе. Объем изобретения, таким образом, определяется прилагаемой формулой изобретения, а не предшествующим описанием, и предполагается, что все изменения, которые входят в смысл и диапазон эквивалентности формулы изобретения, включены в нее.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
1	12H10.G7-VH	EVQLQESGPELVKPGASVKMSCASGYTFTRYVMHWVKQRPGQGLEWIGFINPYNDDTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYHCARWRQLGSLDSWGQGTTLTVSS
2	12H10.G7-VL	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIY ^L LASNLES ^G VPARFSGSGSRSDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNN ^N E ^E EPWTFGGG ^T TKLEIK
3	scFv гуманизованно по 12H10.G7 GB87 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVVRQAPGQCLEWMMGFNIPYND ^D TKYNEKFKGRVTITS ^D TSA ^S TAYMELSS ^L RS ^E DTAVYHCARWRQLGSLDSWGQGT ^T TVT ^V SSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIY ^L LASNLES ^G VPDRFSGSGSRSDFTLTIS ^S LQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
4	12H10.G7-VH CDR2	NPYND
5	12H10.G7-VH CDR3	WRQLGSLDS
6	12H10.G7-VL CDR1	RASESVDTYGSSFVH
7	12H10.G7-VL CDR2	LASNLES
8	12H10.G7-VL CDR3	QQNNEEPWT
9	Гуманизованны й 12H10.G7-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVVRQAPGQRL ^E WMMGFNIPYND ^D TKYNEKFKGRVTITS ^D TSA ^S TAYMELSS ^L RS ^E DTAVYHCARWRQLGSLDSWGQGT ^T TVT ^V SS

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
10	Гуманизированный 12H10.G7-VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQNN EEPWTFGGGTKVEIK
11	Гуманизированный CDR1 12H10.G7 GB87/GB95-VH	GYTFTRY
12	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB95 (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWG QGTTVTSS
13	Гуманизированный 12H10.G7 GB88/GB96-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTSS
14	Гуманизированный 11F4.B9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYIHWVRQPGQGLEWM GEIIPSTGSTIYAQKFGQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC ERWGDYYGRDYWGQGLTVTSS
15	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB88 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQNNEEPWTF GCGTKVEIK
16	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB96 (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWG QGTTVTSS
17	Гуманизированный 12H10.G7 GB89/GB97-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTSS
18	внеклеточная область hFLT3-ITD	NQDLPIKCVLINHKNDSSVKGSSSYPMVSESPEDLGCALRPQSSGT VYEAHAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQN RGVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSI RNTLLYTLRR PYFRKMENQDALVCI SESVPEPIVEWVLCDSQGESCKEESPAVVKKEE KVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPQLFLKVG EPLWIRCKAVHVNHGFLTWELNKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF AFVSSVARNDTGYTTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSDYEID QYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSPCEQKGLDNGYSISKFCNHK HQPGEYIFHAENDDAQFTKMFNLNIRKPKQVLAEASASQASCFSDGYP LPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKFVQWVSSSTLNMSEA IKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGFPFFIQDNIS
19	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB89 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQNNEEPWTF GCGTKVEIK
20	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB97 (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWG QGTTVTSS
21	последовательность Fc	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
	человеческого IgG1 дикого типа	KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	Гуманизированный 12H10.G7 GB90/GB98-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIK
23	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB90 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWGMFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYHCARWRQLGSLDSWGQGTТVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIK
24	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB98 (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWGMFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYHCARWRQLGSLDSWGQGTТVTVSS
25	внеклеточная область hFLT3-T227M	NQDLPIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLGCALRPQSSGTVYEAHAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSI RNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGMDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPQLFLKVGEPLWIRCKAVHVNHGFGLTWELLENKALEEGNYFEMSTYSTNRMTIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSEDIYEQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTF SRKSPCEQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRKPVLAEEASASQASCFSDBGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKVFQWVSSSTLNMSEAIKGFVLKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS
26	scFv гуманизированно го 12H10.G7-VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIK
27	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB91 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWGMFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYHCARWRQLGSLDSWGQGTТVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIK
28	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB99 (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWGMFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYHCARWRQLGSLDSWGQGTТVTVSS
29	Гуманизированный консенсус-VH 14A5.E8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFX ₁ X ₂ YWINWVRQX ₃ PGKX ₄ LEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTX ₅ DTX ₆ DTAYMELSSLRSEDТАVYYCARRX ₇ VYLX ₈ FDYWQGTЛVTVSS, где X ₁ представляет собой P или T, X ₂ представляет собой S или Y, X ₃ представляет собой A или R, X ₄ представляет собой C или G, X ₅ представляет собой V или E, X ₆ представляет собой S или T, X ₇ представляет собой N или V, и X ₈ представляет собой T или Y
30	Гуманизированный 12H10.G7 GB92/GB100-VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDVATYYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIK
31	scFv гуманизированно	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWGMFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYHCARWRQLGSLDSWGQGTТVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
	го 12H10.G7 GB92 (VH-VL)	SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
32	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB100 (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYCQQNN EWPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYHRCARWRQLGSLDSWG QGTTVTV
33	4H2.E3-VH CDR2	NPYSDG
34	Гуманизированный 12H10.G7 GB93/GB101-VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA_AVYYCQQNN EWPWTFGGGTKVEIK
35	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB93 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA_AVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
36	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB101 (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA_AVYYCQQNN EWPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYHRCARWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
37	Гуманизированный 12H10.G7 GB94/GB102-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLWEM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
38	Гуманизированный 12H10.G7 GB94/GB102-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EWPWTFGGGTKVEIK
39	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB94 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
40	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB102 (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EWPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
41	Гуманизированный 12H10.G7 GB102 D101E-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLWEM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
42	Гуманизированный 12H10.G7 GB102-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EWPWTFGCGTKVEIK
43	scFv гуманизированно го 12H10.G7 GB102 D101E (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
44	scFv гуманизированно го 12H10.G7	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EWPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKK

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
	GB102 D101E (VL-VH)	PGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
45	Гуманизированный 12H10.G7 GB102 M34I-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
46	14H8.E7-VL CDR3	QQWSSKSPT
47	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB102 M34I (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGS SFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
48	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB102 M34I (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGS SFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
49	Гуманизированный 12H10.G7 GB102 M34I/D101E-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
50	Гуманизированный 12H10.G7 GB102 M34I/D101E-CDR3	WRQLGSLES
51	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB102 M34I/D101E (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGS SFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
52	scFv гуманизированного 12H10.G7 GB102 M34I/D101E (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGS SFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYYCARWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
53	Гуманизированный консенсус 12H10.G7 1-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVX ₁ HWVRQAPGQRLEW MGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDТАVYY CARWRQLGSLX ₂ SWGQGTTVTVSS, где X ₁ представляет собой M или I, и X ₂ представляет собой E или D
54	Консенсус VH CDR3 гуманизированного 14A5.E8	RX ₁ VYLX ₂ FDY, где X ₁ представляет собой N или V, и X ₂ представляет собой T или Y
55	Консенсус 1-VH CDR3 гуманизированного 12H10.G7	WRQLGSLXS, где X представляет собой E или D
56	Гуманизированный консенсус 12H10.G7 2 -VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITX ₁ DTSASTAYMELSSLRSEDТАVYX ₂ CARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS, где X ₁ представляет собой S или R, и X ₂ представляет собой Y или H
57	Гуманизированный консенсус 12H10.G7 2 -VL	DIVMTQSPX ₁ SLAVSLGERATINCRASESVDTYGS SFVHWYQQKPGQP P KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSX ₂ TDFTLTISLQAEDX ₃ AX ₄ YQCQ QNNEEPWTFGGGTKVEIK, где X ₁ представляет собой A

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
		или D, X ₂ представляет собой R или G, и X ₃ представляет собой A или V, и X ₄ представляет собой T или V
58	Гуманизированный консенсус 12H10.G7 3-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVX ₁ HWVRQAPGQCLEW MGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYY CARWRQLGSLX ₂ SWGQGTTVTVSS, где X ₁ представляет собой M или I, и X ₂ представляет собой E или D
59	Консенсус VH CDR1 гуманизированно го 14A5.E8	GYTFX ₁ X ₂ Y, где X ₁ представляет собой R или T, и X ₂ представляет собой S или Y
60	14A5.E8-VH	EVQLQESGAELVQPGASVRLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPQGLEWI GNIYPGSSIIYNENFKNRATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYYC ARRVVYLYFDYWQGTTLTVSS
61	14A5.Э8-VL	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIY DTSKLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWTSKSPT FGGGTKLEIK
62	14A5.E8-VH CDR1	GYTFTSY
63	14A5.E8-VH или гуманизированный 14A5.E8 консенсус VH CDR2	YPGSSI
64	14A5.E8-VH CDR3	RVVYLYFDY
65	14A5.E8-VL CDR1	SASSSVSYMH
66	14A5.E8-VL или гуманизированный 14A5.E8 консенсус VL CDR2	DTSKLAS
67	14A5.E8-VL или гуманизированный 14A5.E8 консенсус VL CDR3	QQWTSKSPT
68	Гуманизированный 14A5.E8 1551/1552-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGLEWM GNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTVDTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVVYLYFDYWQGTTLTVSS
69	Гуманизированный 14A5.E8 1551/1552-VL	EIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTSFTLTISSELEPEDAAVYYCQQWTSKSPT FGGGTKVEIK
70	scFv гуманизированно го 14A5.E8 1551 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGLEWM GNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTVDTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVVYLYFDYWQGTTLTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEIVLTQ SPATLSLSPGEEKATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLA SGIPARFSGSGSGTSFTLTISSELEPEDAAVYYCQQWTSKSPTFGCGTK VEIK
71	scFv гуманизированно го 14A5.E8 1552 (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTSFTLTISSELEPEDAAVYYCQQWTSKSPT FGGGTKVEIKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCVKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGLEWMGNIYPGSSIIYNENFKN RVTMTVDTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVVYLYFDYWQGTLV TVSS
72	Гуманизированный 14A5.E8 1553/1554-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVKVSGYTFTSYWINWVRQAPKGLEWM GNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVVYLYFDYWQGTTLTVSS

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
73	Гуманизированный 14A5.E8 1553/1554-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGGGTKVEIK
74	scFv гуманизированно го 14A5.E8 1553 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVVYLYFDYWGGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIK
75	scFv гуманизированно го 14A5.E8 1554 (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVVYLYFDYWGGQGLVTVSS
76	Гуманизированный 14A5.E8 1689-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKGLEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNVYLTFDYWGGQGLVTVSS
77	Гуманизированный 14A5.E8 1689-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGGGTKVEIK
78	Гуманизированный 14A5.E8 1689-VH CDR1	GYTFPYY
79	Гуманизированный 14A5.E8 1689-VH CDR3	RNVYLTFDY
80	Гуманизированный 14A5.E8 1689-VL CDR1	SASSSVSYIH
81	scFv гуманизированно го 14A5.E8 1689 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNVYLTFDYWGGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIK
82	scFv гуманизированно го 14A5.E8 1689 (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNVYLTFDYWGGQGLVTVSS
83	14H8.E7-VL	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIFDTSKLASGVPVRFSGSGSGTSLTITNMETEDAATYYCQQWSSKSPTFGGGTKLEIK
84	Гуманизированный консенсус 14A5.E8 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYXHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGGGTKVEIK, где X представляет собой M или I
85	11F4.B9-VH	EVQLQESGPELVKPGASVKISCKASGYSFTGYYIHWVKQGPEKSLEWIGEII PSTGSTIYNQKFKAKATLTVDKSSSTAYLQLKSLTSEDSAVYYCERWGDYYGRDYWGQGSVTVSS
86	Консенсус VL CDR1 гуманизированно го 14A5.E8	SASSSVSYXH, где X представляет собой M или I
87	11F4.B9-VH CDR1	GYSFTGY
88	11F4.B9-VH CDR2	IPSTGS
89	11F4.B9-VH CDR3	WGDYYGRDY

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
90	11F4.B9-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDIYGN SFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKLEIK
91	11F4.B9-VL CDR1	RASESVDIYGN SFMH
92	11F4.B9-VL CDR2	RASNLES
93	11F4.B9-VL CDR3	QQSNEDPRT
94	Гуманизированный 11F4.B9-VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDIYGN SFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLES GVPDRFSGSGSRTDFTLTINSLQAEDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKVEIK
95	4A4.A3-VH	QVTLKESGPGILQPSQTL SLTCSFSGFSLTTYGMGVGWIRQPSGKGLE WLANIWFNDNKYYNSTLKSRLTISKDT SNNQVFLKISSVDTTDTATYY CAQITTVVGTFDYWGQGSPLTVSP
96	4A4.A3-VL	RIVMTQSPTTMAASPGEKITITCSASSSISSIIYLHWYQQKPGFSPKLL IFRTSDLASGVPPRFSGSGSGTSYSLTIGTMEAEADVATYYCQQGSSFP RTFGGGTKLEIK
97	4A4.A3-VH CDR1	GFSLTTYGM
98	4A4.H7-VH CDR2	YPNTGI
99	4A4.A3-VH CDR2	WFNDN
100	4A4.A3-VH CDR3	ITTVVGTFDY
101	4A4.A3-VL CDR1	SASSSISSIIYLH
102	4A4.A3-VL CDR2	RTSDLAS
103	4A4.A3-VL CDR3	QQGSSFPRT
104	4A4.H7-VH	EVQLQESGPELVKPGASVKISCKASGYSFTGYIHWVKQSP EESLEWI GEIYPNTGITTYNQKFTAKATLTVDKSSNTAYMQLKSLTSEDSAVYYC TRWGDYYGRDYWGQGSVTVSS
105	4A4.H7-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDTHGNSFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKLEIK
106	4A4.H7-VL CDR1	RASETVDTHGNSFMH
107	15A11.C8-VH	EVQLQESGGGLVKTGGSRKLS CAASGFTFSDYGMHWRHTPEKGLEWV VYISSGNTIFYTDTVKGRFTISRDNANTLFLQMTSLRSED TAVYFC VRQGYYYAMDYWGQGSVTVSS
108	15A11.C8-VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTIRCRASQDITNYLNWYQQKPDGAVKLLI SYTSILQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQGDVATYFCQQGSSLPW TFGGGTLEIK
109	15A11.C8-VH CDR1	GFTFSDY
110	15A11.C8-VH CDR2	SSGGNT
111	15A11.C8-VH CDR3	QGYYYAMDY
112	15A11.C8-VL CDR1	RASQDITNYLN
113	15A11.C8-VL CDR2	YTSILQS
114	15A11.C8-VL CDR3	QQGSSLPWT
115	12C9.E5-VH	EVQLQESGAELVRPGASVKLSCKASGYIFTDY EIHWVKQTPVHGLEWI GAIDPETGITAYSQKFKGKATLTTDTSSSTAYMEFRSLTSEDSAVYYC TRGGLLYWGQGSVTVSS
116	12C9.E5-VL	DVVMQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSDGETYLNWLQQRPGQS PKRLMYQVSKLDPGIPDRFSGSGSETDFTLKI SRVEAEDLGIYYCLQG TFYPHTFGGGTKLEIK
117	12C9.E5-VH CDR1	GYIFTDY
118	12C9.E5-VH CDR2	DPETGI
119	12C9.E5-VH CDR3	GGLLY
120	12C9.E5-VL CDR1	KSSQSLLYSDGETYLN

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
121	12C9.E5-VL CDR2	QVSKLDP
122	12C9.E5-VL CDR3	LQGTFFYPHT
123	1A2.A3 VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKISCKASGYSFTGYIHWVKQSPPEESLEWI GEIYPNTGITTYNQKFTAKATLTVDKSSNTAYMQLKSLTSEDSAVYYC TRWGDYYGRDYWGQGTSTVTVSS
124	1A2.A3-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDTHGNSFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLSEGI PARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKLEIK
125	4H2.E3-VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYLMHWMKQKPGQGLEWI GYINPYS DGIKYNEKFRDKATLTVSDKSSNTAYMELSSLTSEDSAVYYC AHSSGYVGYAMDYWGQGTSTVTVSS
126	4H2.E3-VL	GIVMTQTTPSVPVTPGESVSI SCRSSKSLLSNNGNTYLYWFLQRPQQS PQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTFTLRISRVEAEDVGVYYCMQH LEYPFTFGSGTKLEIK
127	4H2.E3-VH CDR3	SSGYVGYAMDY
128	4H2.E3-VL CDR1	RSSKSLLSNNGNTYLY
129	4H2.E3-VL CDR2	RMSNLAS
130	4H2.E3-VL CDR3	MQHLEYPFT
131	14H8.E7-VH	EVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWINWLKQRPQGLEWI GNIYPGSTIINYNEKFKNKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYYC ARRVVYLYFDSWGQGTTLTVSS
132	14H8.E7-VH CDR1	GYTFTNY
133	14H8.E7-VH CDR2	YPGSTI
134	14H8.E7-VH CDR3	RVVYLYFDS
135	Альфа- mAb FLT3 - 4G8 (синиммунное) VH	QVQLQQPGAELVKPGASLKLCKSSGYTFTSYWMHWVRQRPQHGLEWI GEIDPDSYKDYNQKFKDKATLTVDRSSNTAYMHLSSLTSDDSAVYYC ARAITTTTFDFWQGTTLTVSS
136	Альфа- mAb FLT3 - 4G8 (синиммунное) VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVLSLSCRASQSI SNLHWYQQKSHESPRLLI KYASQSI SGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVETEDFGVYFCQQSNTWPY TFGGGTKLEIK
137	Альфа- mAb FLT3 - EB10 (ImClone/Lilly) VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHVWRQAPQGLEWM GIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYC ARGVGAHDAFDIWGQGTTVTVSS
138	Альфа- mAb FLT3 - EB10 (ImClone/Lilly) VL	DVVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNNGNLYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDTDFTLQISRVEAEDVGVYYCMQG THPAISFGQGTTRLEIK
139	Альфа- mAb FLT3 - NC7 (ImClone/Lilly) VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPQGLEWM GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC ATFALFGFREQAQFDIWGQGTTVTVSS
140	Альфа- mAb FLT3 - NC7 (ImClone/Lilly) VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDLATYYCQQSYSTPF TFGPGTKVDIK
141	Альфа- mAb FLT3 - FL23 (Amgen) VH	QVTLKESGPALVKPTETLTLTCTVSGFSFRNARMGVSWIRQPPGKALE WLAHIFSNDEKSYSTSLKSRITISKDTSKQVVLTLTNMDFVDTATYF CARMPEYSSGWSGAFDIWGQGTMTVTVSS
142	Альфа- mAb FLT3 - FL23 (Amgen) VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIGYDLGWYQQKPKAPKRLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLISSLPEDFATYYCLQHNSEFPW TFGQGTKEIK

SEQ ID NO.	ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
143	Альфа- mAb FLT3 - FL39 (Amgen) VH	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNARMGVSWIRQPPGKCLE WLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLMTNVDVDTATYY CARIVGYGSGWYGFFDYWGQGLVTVSS
144	Альфа- mAb FLT3 - FL39 (Amgen) VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGI RNDLGWYQQKPGKAPKRLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPL TFGCGTKVEIK
145	Альфа- mAb FLT3 - FL61 (Amgen) VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWV AVISYDGSNEFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGGEITMVRGVIGYYYYGMDVWGQGTTVTVSS
146	Альфа- mAb FLT3 - FL61 (Amgen) VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPL TFGGGTKVEIK

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
 - (a) варьибельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область 1 (CDR1), определяющую комплементарность область 2 (CDR2) и определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 4 и 55, соответственно; и
 - (b) варьибельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно.
2. Антигенсвязывающий участок по п. 1, в котором CDR3 из VH содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 5.
3. Антигенсвязывающий участок по п. 1, в котором CDR3 из VH содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 50.
4. Антигенсвязывающий участок по любому пп. 1–3, в котором VH содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 37, и VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 38.
5. Антигенсвязывающий участок по любому пп. 1-4, в котором VH содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 53, и VL содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 42.
6. Антигенсвязывающий участок по п. 5, в котором VH и VL содержат аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 9 и 10; 13 и 10; 17 и 10; 9 и 22; 9 и 26; 9 и 30; 9 и 34; 37 и 38; 41 и 42; 45 и 42; или 49 и 42, соответственно.
7. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
 - (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 59, 63 и 54, соответственно; и
 - (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 86, 66 и 67, соответственно.

8. Антигенсвязывающий участок по п. 7, в котором VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 из SEQ ID NO: 78, 63, 79, соответственно, и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 из SEQ ID NO: 80, 66, 67, соответственно.
9. Антигенсвязывающий участок по п. 7, в котором VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 из SEQ ID NO: 62, 63, 64, соответственно, и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 из SEQ ID NO: 65, 66, 67.
10. Антигенсвязывающий участок по п. 7, в котором VH содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 76, и VL содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 77.
11. Антигенсвязывающий участок по любому пп. 7-10, в котором VH содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 29, и VL содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 84.
12. Антигенсвязывающий участок по п. 11, в котором VH и VL содержат аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 68 и 69; 72 и 73; или 76 и 77, соответственно.
13. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
 - (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 87, 88 и 89, соответственно; и
 - (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 91, 92 и 93, соответственно.
14. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
 - (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 97, 99 и 100, соответственно; и
 - (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 101, 102 и 103, соответственно.
15. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
 - (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 87, 98 и 89, соответственно; и

- (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 106, 92 и 93, соответственно.
16. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
- (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 109, 110 и 111, соответственно; и
- (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 112, 113 и 114, соответственно.
17. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
- (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 117, 118 и 119, соответственно; и
- (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 120, 121 и 122, соответственно.
18. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
- (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 87, 98 и 89, соответственно; и
- (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 106, 92 и 93, соответственно.
19. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
- (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 62, 33 и 127, соответственно; и
- (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 128, 129 и 130, соответственно.
20. Антигенсвязывающий участок, который связывает FLT3, содержащий:
- (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 132, 133 и 134, соответственно; и
- (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO: 65, 66 и 46, соответственно.
21. Антигенсвязывающий участок, который конкурирует с антигенсвязывающим участком по любому пп. 13-15 и 18-19.

22. Антигенсвязывающий участок по любому из предыдущих пунктов, где антигенсвязывающий участок связывает FLT3 человека с константой диссоциации (K_D), меньшей или равной 20 нМ, как измерено с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR).
23. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1–6, 13, 14 и 18, где антигенсвязывающий участок связывает FLT3 человека с K_D , меньшей или равной 10 нМ, как измерено с помощью SPR.
24. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1–6, где антигенсвязывающий участок связывает вариант FLT3 человека, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 25.
25. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-6, где антигенсвязывающий участок связывает вариант FLT3 человека, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:18.
26. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-16 и 18-25, где антигенсвязывающий участок связывает FLT3 яванского макака.
27. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-15 и 17-26, где антигенсвязывающий участок не конкурирует с FLT3L за связывание FLT3.
28. Антигенсвязывающий участок по любому предыдущих пунктов, где антигенсвязывающий участок представлен в виде вариабельного одноцепочечного фрагмента (scFv).
29. Антигенсвязывающий участок по п. 28, в котором scFv содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 и 82.
30. Белок, содержащий антигенсвязывающий участок по любому из предыдущих пунктов.
31. Белок по п. 30, дополнительно содержащий константную область тяжелой цепи антитела.

32. Белок по п. 31, в котором константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG человека.

33. Белок по п. 32, в котором константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG1 человека.

34. Белок по п. 32 или 33, в котором каждая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 21.

35. Белок по любому из пп. 32, 34, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439, пронумерованных в соответствии с системой нумерации ЕС.

36. Белок по любому из пп. 32, 35Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D и K439E, пронумерованных в соответствии с системой нумерации ЕС.

37. Белок по любому из пп. 32, в котором одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций относительно SEQ ID NO: 21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций относительно SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439, пронумерованных в соответствии с системой нумерации ЕС.

38. Белок по п. 37, в котором одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замены K360E и K409W относительно SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замены

Q347R, D399V и F405T относительно SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации ЕС.

39. Белок по п. 37 373838в котором одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену Y349C относительно SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену S354C относительно SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации ЕС.

40. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий белок по любому из пп30лекарственного средства.

41. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 40, в котором молекула лекарственного средства выбрана из группы, состоящей из ауристатина, N-ацетил-γ калихеамицина, майтанзиноида, пирролобензодиазепина и SN-38.

42. Иммуноцитокин, содержащий антигенсвязывающий участок по любому из пп. 29

43. Иммуноцитокин по 42, в котором цитокин выбран из группы, состоящей из IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF и IFNα.

44. Биспецифический активатор Т-клеток, содержащий антигенсвязывающий участок по любому из пп. 29и антигенсвязывающий участок, который связывает CD3.

45. Химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий:

(a) антигенсвязывающий участок по любому из пп. 29;

(b) трансмембранный домен; и

(c) внутриклеточный сигнальный домен.

46. CAR по п. 45, в котором трансмембранный домен выбран из трансмембранных областей альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, FLT3, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD152 и CD154.

47. CAR по п. 45или 46, в котором внутриклеточный сигнальный домен содержит первичный сигнальный домен, содержащий функциональный сигнальный домен из CD3

дзета, общий FcR гамма (FCER1G), Fc гамма RIIa, FcR бета (Fc эписилон R1b), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3-эписилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12.

48. CAR по любому из пп. 45-49, в котором внутриклеточный сигнальный домен дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен, содержащий функциональный сигнальный домен костимулирующего рецептора.

49. CAR по п. 48, в котором костимулирующий рецептор выбран из группы, состоящей из OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, лиганда, который связывается с CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS и 4-1BB (CD137) или любой их комбинации.

50. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая CAR по пп. 45-49. Иммунная эффекторная клетка, экспрессирующая CAR по любому из пп. 45-49.

51. Иммунная эффекторная клетка по п. 52 или 53, где иммунная эффекторная клетка представляет собой Т-клетку.

52. Иммунная эффекторная клетка по п. 54, где Т-клетка представляет собой CD8⁺ Т-клетку, CD4⁺ Т-клетку или НКТ-клетку.

53. Иммунная эффекторная клетка по п. 52 или 53, где иммунная эффекторная клетка представляет собой НК-клетку.

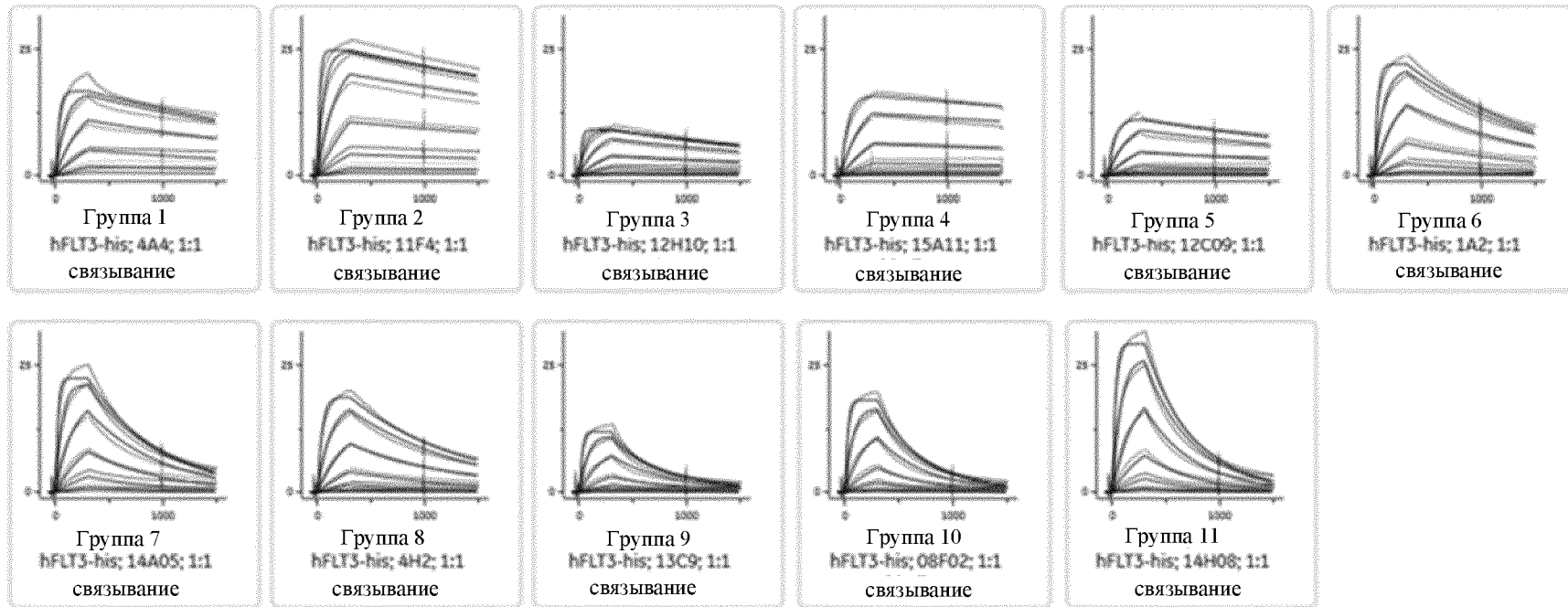
54. Фармацевтическая композиция, содержащая белок по любому из пп. 30-39, конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 40 или 41, иммуноцитокин по п. 42 или 43, биспецифический активатор Т-клеток по п. 44 или иммунную эффекторную клетку по любому из пп. 52-56; и фармацевтически приемлемый носитель.

55. Способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества белка по любому из пп. 30-39, конъюгата антитело-лекарственное средство по п. 40 или 41, иммуноцитокина по п. 42 или 43, биспецифического активатора Т-клеток по п. 44, иммунной эффекторной клетки по любому из пп. 52-56 или фармацевтической композиции по п. 57.

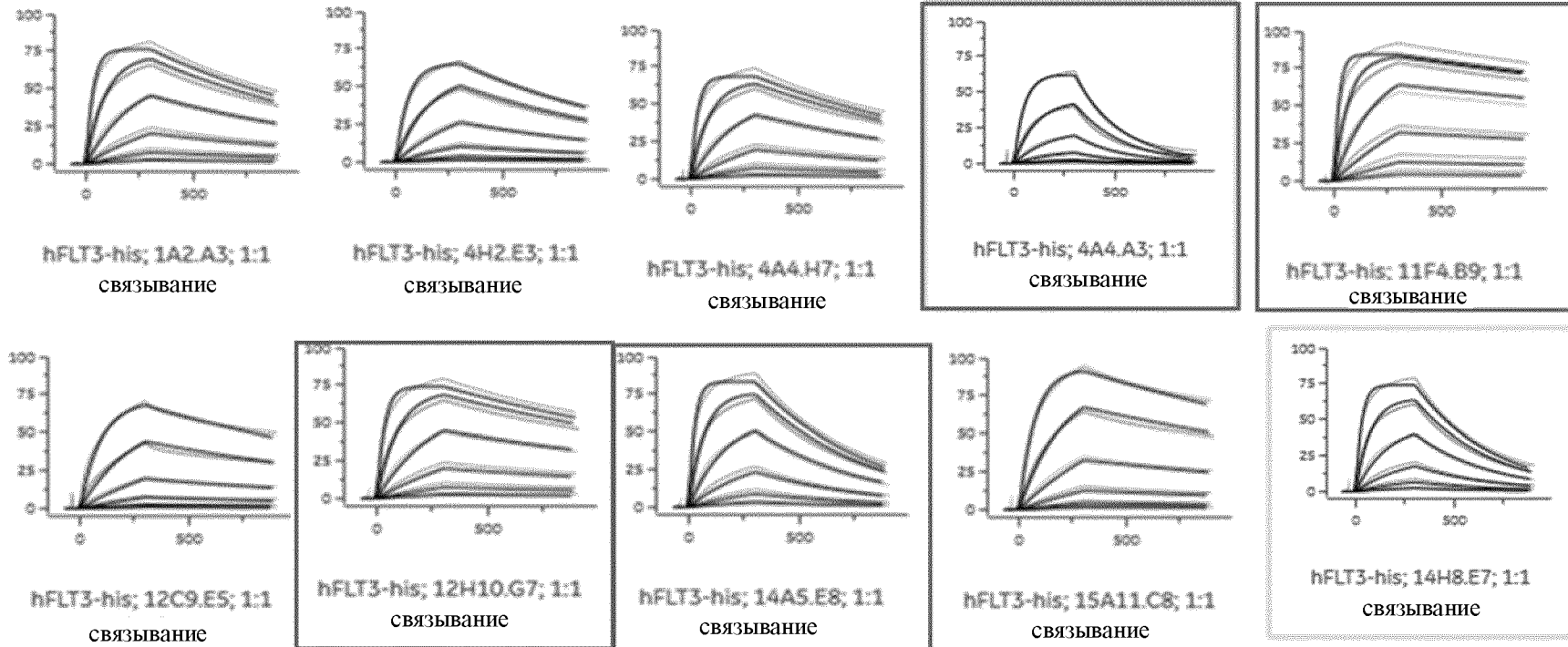
56. Способ по п. 58, где рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование.

57. Способ по п. 59, где гематологическое злокачественное новообразование представляет собой лейкоз.
58. Способ по п. 59 или 60, где рак выбран из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза (AML), острого лимфобластного лейкоза (ALL), миелодисплазии, острого Т-лимфобластного лейкоза и острого промиелоцитарного лейкоза.
59. Способ по любому из пп. 58-61, где рак экспрессирует FLT3.

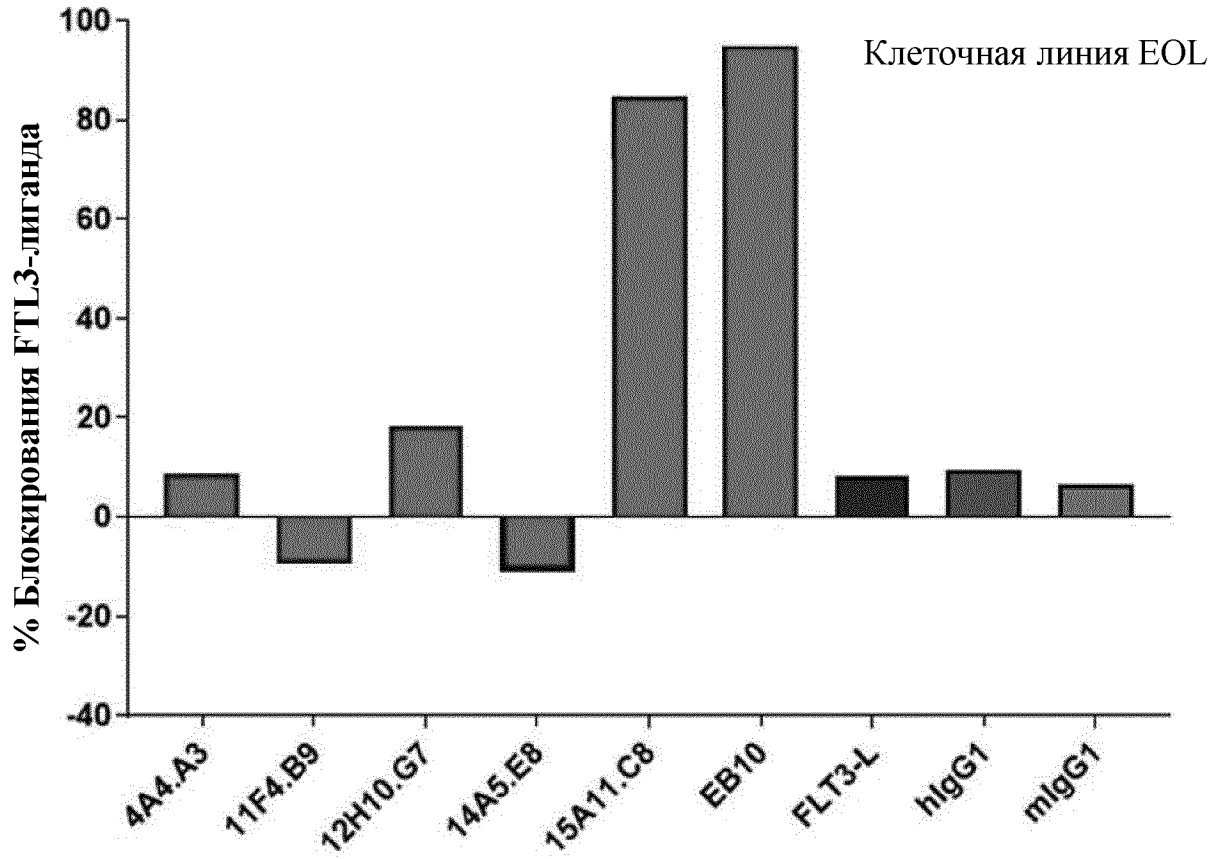
ФИГ. 1



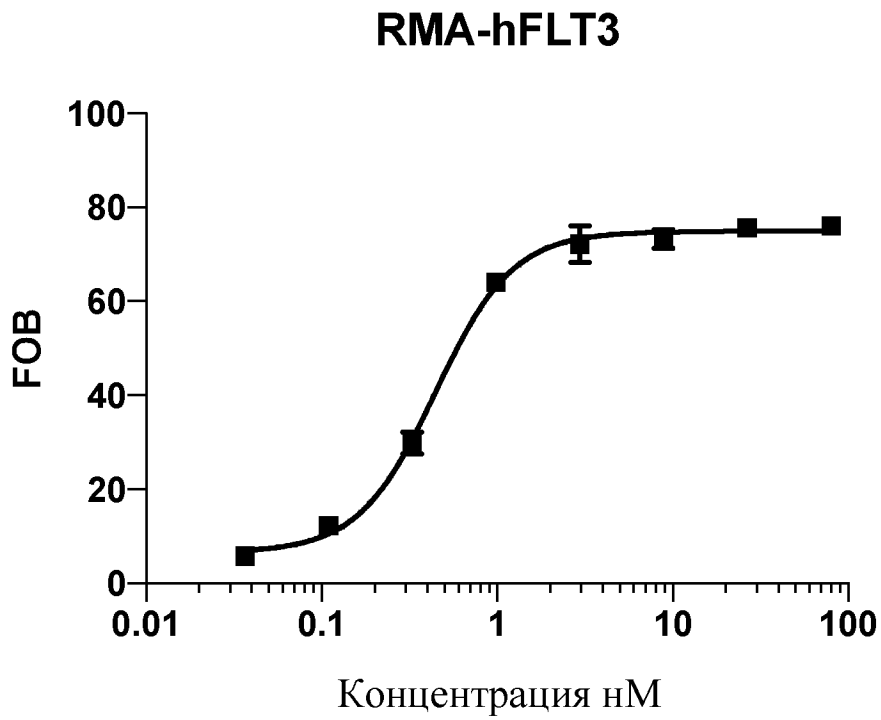
ФИГ. 2



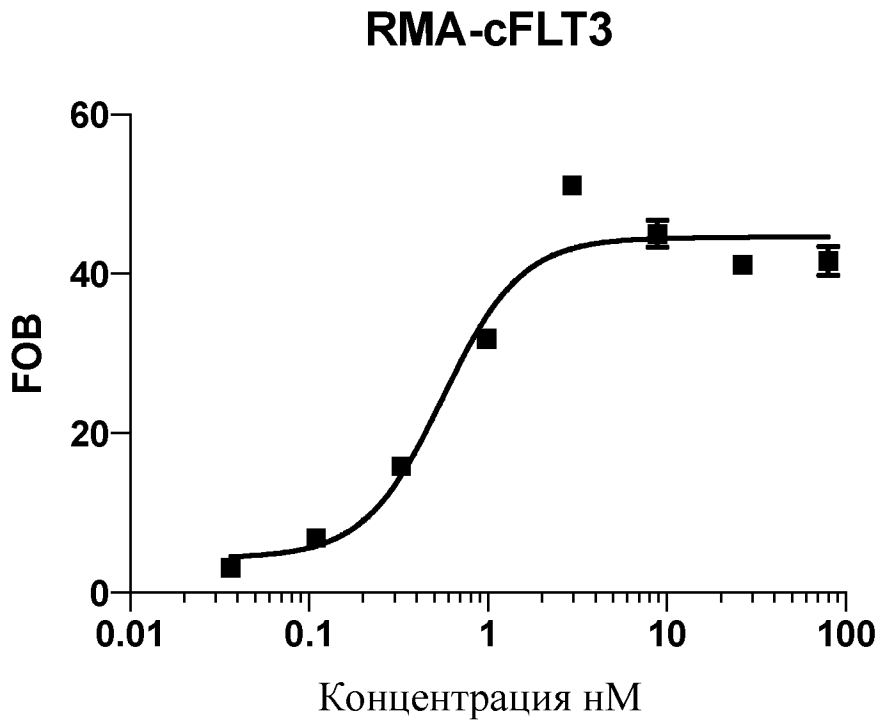
ФИГ. 3



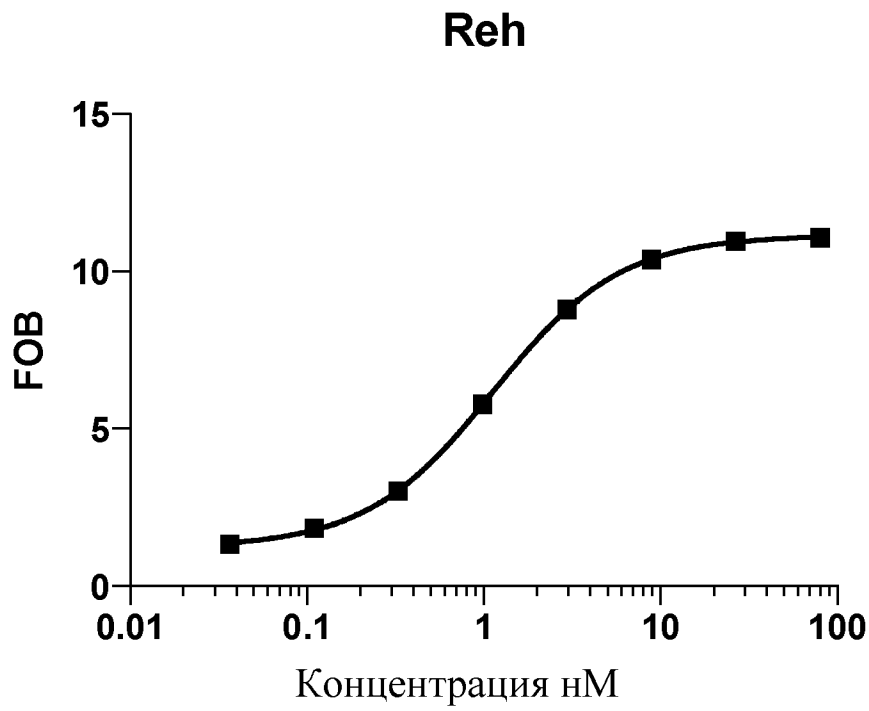
ФИГ. 4А



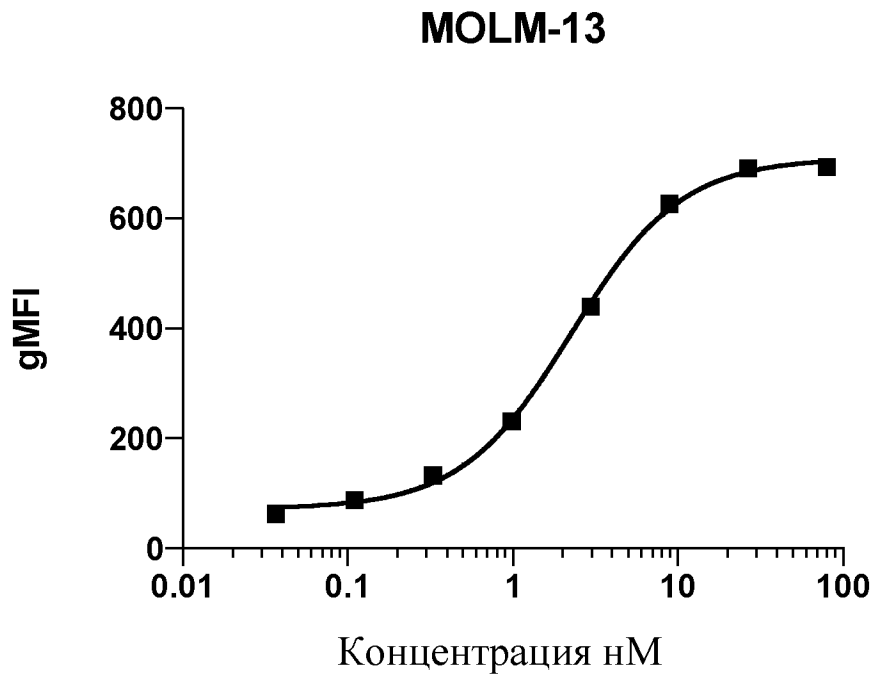
ФИГ. 4В



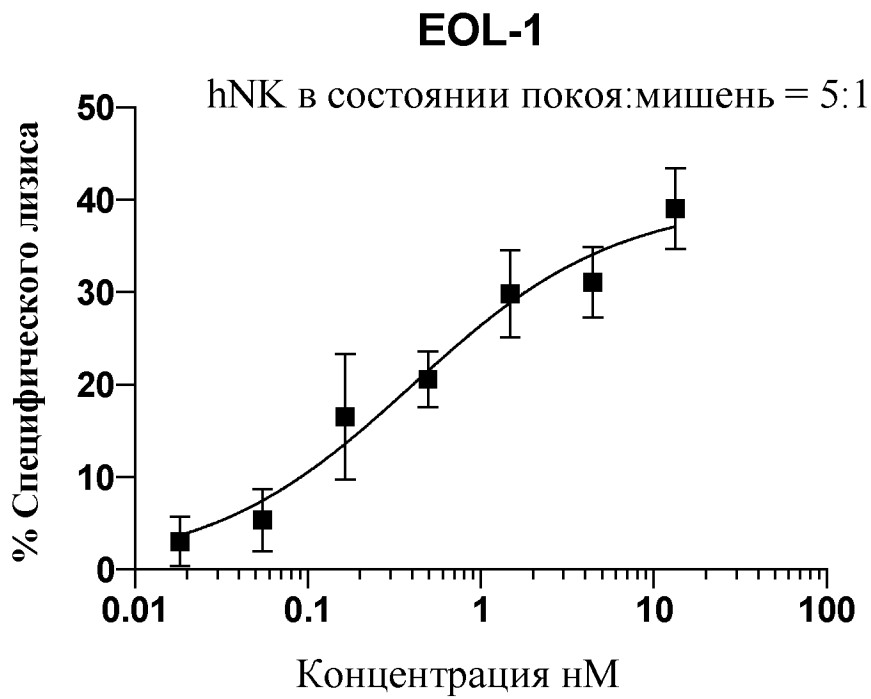
ФИГ. 4С



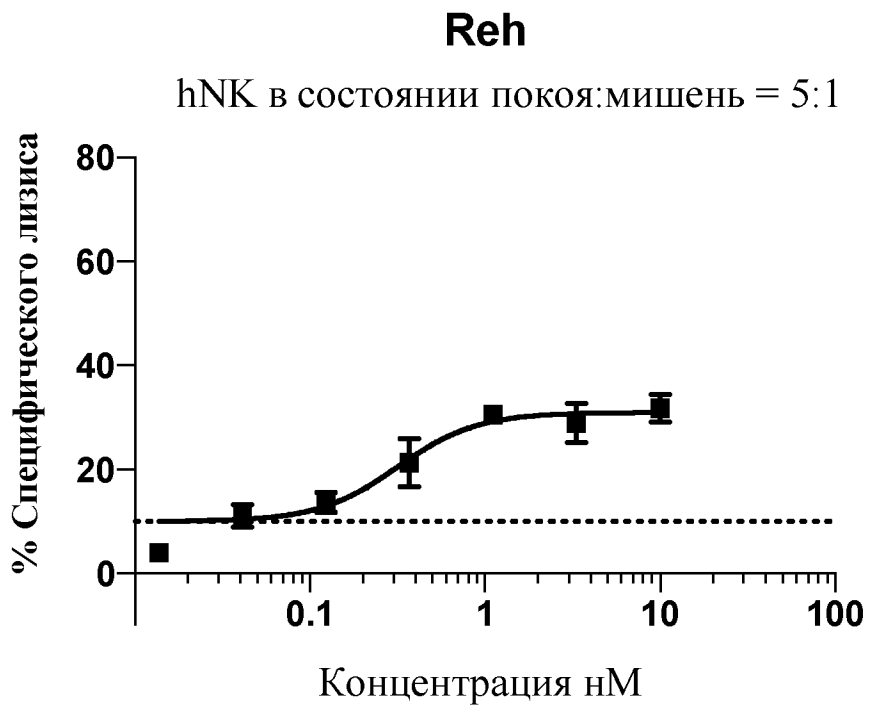
ФИГ. 5



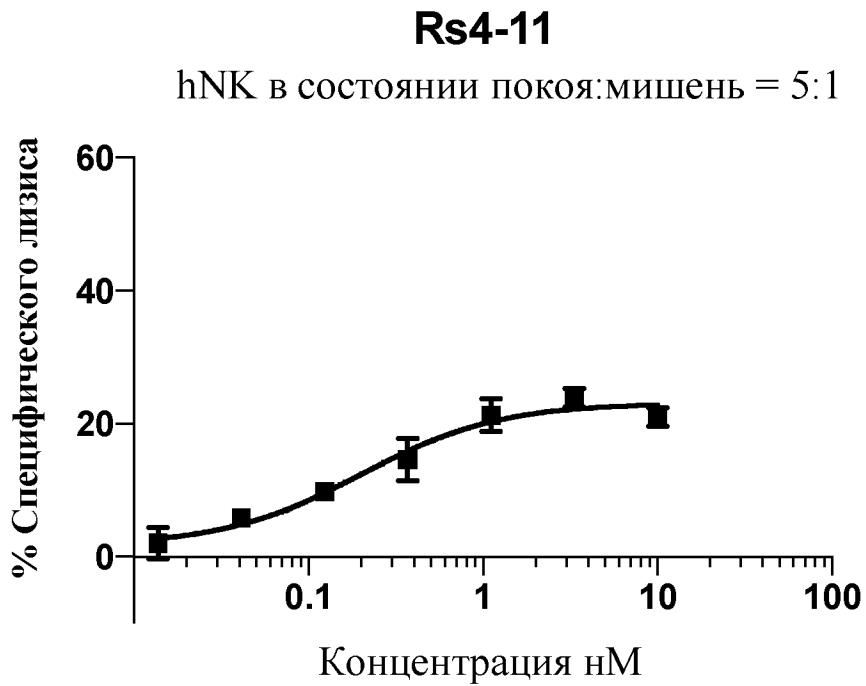
ФИГ. 6А



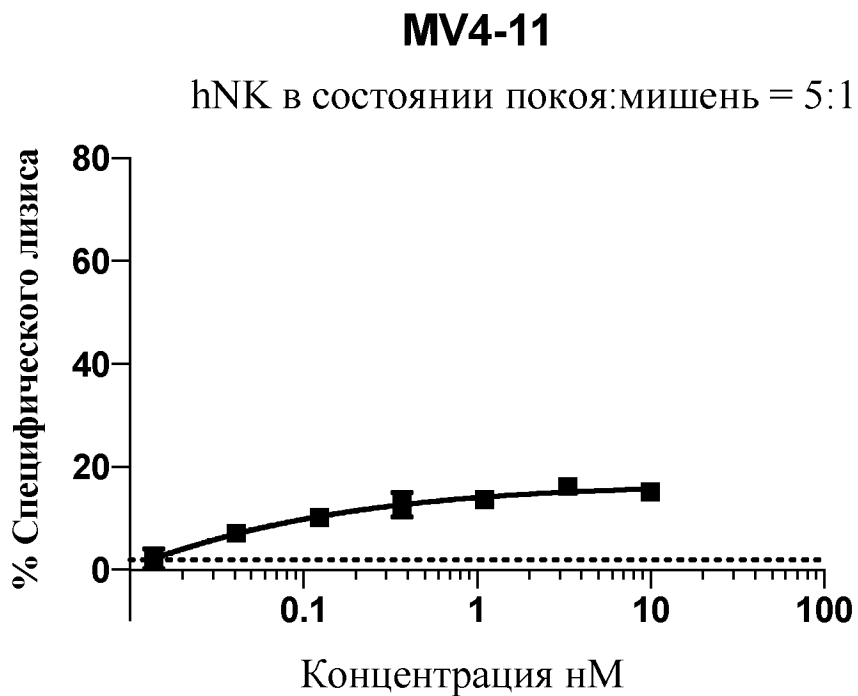
ФИГ. 6В



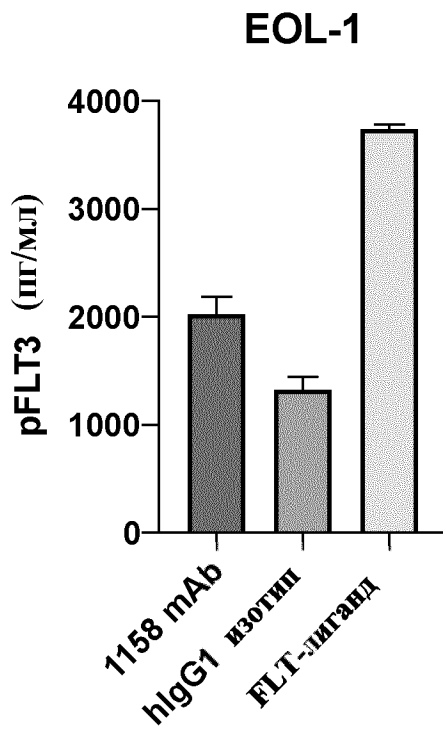
ФИГ. 6С



ФИГ. 6D



ФИГ. 7А



ФИГ. 7В

